Investigação Científica no Campo da Engenharia e da Tecnologia de Alimentos 3



Vanessa Bordin Vieira
Natiéli Piovesan
(Organizadoras)

Atena
Editora
Ano 2021

Investigação Científica no Campo da Engenharia e da Tecnologia de Alimentos 3



Vanessa Bordin Vieira
Natiéli Piovesan
(Organizadoras)

Atena
Editora
Ano 2021

2021 *by Atena Editora*
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2021 Os autores
Copyright da Edição © 2021 Atena Editora
Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Atena Editora
Ano 2021

Atena
Editora
Ano 2021

Ciências Agrárias

Atena Editora
Ano 2021

Ciências Agrárias

Investigação científica no campo da engenharia e da tecnologia de alimentos 3

Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Luiza Alves Batista
Correção: Maiara Ferreira
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadoras: Vanessa Bordin Viera
Natiéli Piovesan

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

I62 Investigação científica no campo da engenharia e da tecnologia de alimentos 3 / Organizadoras Vanessa Bordin Viera, Natiéli Piovesan. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5983-088-6
DOI 10.22533/at.ed.886210521

1. Tecnologia de Alimentos. I. Viera, Vanessa Bordin (Organizadora). II. Piovesan, Natiéli (Organizadora). III. Título.
CDD 644

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

Atena Editora
Ano 2021

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

APRESENTAÇÃO

O *e-book* “Investigação Científica no Campo da Engenharia e da Tecnologia de Alimentos 2, está dividido em 2 volumes que totalizam 48 artigos científicos, os quais englobam temáticas relacionadas a Ciência e Tecnologia de Alimentos e Engenharia de Alimentos. Os artigos abordam assuntos atuais na área de alimentos, ampliando o conhecimento da comunidade científica.

Desejamos uma boa leitura!

Vanessa Bordin Viera

Natiéli Piovesan

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 1

A IMPLANTAÇÃO DO SISTEMA APPCC NUMA SORVETERIA DA BAIXADA SANTISTA

Rafael Martins Gomes
Antonio Enésio de Sousa
Felipe Alencar Machado
Thifany Souza Campos
Vitoria Reis Bottura

DOI 10.22533/at.ed.8862105211

CAPÍTULO 2 9

ANÁLISE SOCIOECONÔMICA DO CONSUMIDOR DE PESCADO DO MUNICÍPIO DE TURIAÇU, LITORAL OCIDENTAL DO MARANHÃO

Ivana Correia Costa
Malena Correia Costa
Daniele Pereira
Mariene Amorim de Oliveira
Aline de Jesus Lustosa Nogueira
Ellen Fernanda Monteiro Copes
Josyanne Araújo Neves

DOI 10.22533/at.ed.8862105212

CAPÍTULO 3 19

APLICABILIDADE DA BACTERIOLOGIA CONVENCIONAL E BIOLOGIA MOLECULAR PARA PESQUISA DE *Listeria monocytogenes* EM LEITE UAT

Polyana de Faria Cardoso
Fábio Antônio Colombo
Maria Clara Freitas de Assis
Lívia do Nascimento Santana
Sandra Maria Oliveira Morais Veiga

DOI 10.22533/at.ed.8862105213

CAPÍTULO 4 34

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ADAPTATIVA DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICA AO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

Michelle Carlota Gonçalves
Juliana Junqueira Pinelli
Tenille Ribeiro de Souza
Jorge Pamplona Pagnossa
Mônica Aparecida da Silva
Anderson Henrique Venâncio
Clara Mariana Gonçalves Lima
Bruna Azevedo Balduino
Nelma Ferreira de Paula Vicente
Roberta Hilsdorf Piccoli

DOI 10.22533/at.ed.8862105214

CAPÍTULO 5..42

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO GESTOR NAS COMPETÊNCIAS GERENCIAIS EM UMA UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO

Maria Rosa Figueiredo Nascimento
Alexandra Marins Hatschek
Beatriz de Lopes
Katia Cansanção Correa de Oliveira
Vânia Madeira Policarpo

DOI 10.22533/at.ed.8862105215

CAPÍTULO 6..52

COALICIONES DE POLÍTICAS PÚBLICAS PARA EL DESARROLLO LOCAL: LA INNOVACIÓN SOCIAL EN LOS PROGRAMAS DE ADQUISICIÓN DE ALIMENTOS – PAA Y PNAE

Rosinele da Silva de Oliveira
José Daniel Gómez López
Mário Vasconcellos Sobrinho

DOI 10.22533/at.ed.8862105216

CAPÍTULO 7..74

COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE PASTAS COMERCIAIS CONTENDO MATÉRIAS-PRIMAS OLEAGINOSAS COM AS INFORMAÇÕES DA ROTULAGEM NUTRICIONAL

Cecília Cassimiro Pereira
Milena de Oliveira Dutra
Maria Luiza Tonetto Silva
Gustavo Puppi Simão
Samuel Milanez
Maria Manuela Camino Feltes

DOI 10.22533/at.ed.8862105217

CAPÍTULO 8..84

COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ANTOCIANINAS TOTAIS DE CULTIVARES HÍBRIDAS DE UVAS *SWEET SAPPHIRE*, *SWEET SURPRISE* E *SWEET JUBILEE*

Marta Angela de Almeida Sousa Cruz
Gabriela de Freitas Laiber Pascoal
Lauriza Silva dos Santos
Larissa Gabrielly Barbosa Lima
Maria Eduarda de Souza Jacintho
Anderson Junger Teodoro

DOI 10.22533/at.ed.8862105218

CAPÍTULO 9..95

CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE AÇOUGUES ASSOCIADAS À QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE *IN NATURA*

Erica Lorenna Batista da Silva
Teresa Emanuelle Pinheiro Gurgel

Carolina de Gouveia Mendes da Escossia Pinheiro
Joice Teixeira Souza
Kewen Santiago da Silva Luz
DOI 10.22533/at.ed.8862105219

CAPÍTULO 10..110

CONTAGEM DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*, DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E DETECÇÃO DE *SALMONELLA* SPP. EM CARNE MECANICAMENTE SEPARADA
Andressa Barella de Freitas
Creciana Maria Endres
Andreia Paula Dal Castel
Maristela Schleicher Silveira
Jaqueline Lidorio de Mattia
Elizandro Pruence Nickele
DOI 10.22533/at.ed.88621052110

CAPÍTULO 11..117

CONSTRUÇÃO DE UM PROTÓTIPO E SIMULAÇÃO DE DIAGRAMA DE FASES 3D PARA SUBSTÂNCIAS PURAS
Dhayna Oliveira Sobral
Lina María Grajales
DOI 10.22533/at.ed.88621052111

CAPÍTULO 12..127

FICHA TÉCNICA DE PREPARO (FTP): UMA FERRAMENTA DE PADRONIZAÇÃO PARA NOVOS PRODUTOS À BASE DE PESCADO
Kátia Alessandra Mendes da Silva
Daniele Regis Pires
Amanda Lima Albuquerque Jamas
Elizete Amorim
Gesilene Mendonça de Oliveira
DOI 10.22533/at.ed.88621052112

CAPÍTULO 13..133

FILMES BIOPOLIMÉRICOS COMO SUPORTE PARA NANOPARTICULAS DE PRATA: ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
Taís Port Hartz
Karina Rodrigues de Fraga
Carla Weber Scheeren
DOI 10.22533/at.ed.88621052113

CAPÍTULO 14..138

HIDRÓLISE DO FARELO DE SEMENTE DE JACA PARA PRODUÇÃO DE β-CICLODEXTRINAS POR *Bacillus* sp. SM-02
Kayo Santiago Farias Novais
Adriana Bispo Pimentel
Weclis Renan Koelher Braga
Marcia Luciana Cazetta

Elizama Aguiar-Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.88621052114

CAPÍTULO 15..153

IMOBILIZAÇÃO E CINÉTICA DA INVERTASE DE *Saccharomyces cerevisiae* EM AGAROSE

Ricardo Peraça Toralles

Marcela Vega Ferreira

Walter Augusto Ruiz

DOI 10.22533/at.ed.88621052115

CAPÍTULO 16..160

IRRIGADOR SOLAR: UMA ANÁLISE DO SEU DESEMPENHO SEGUNDO UMA DISTRIBUIÇÃO GAUSSIANA

Lelis Araújo de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.88621052116

CAPÍTULO 17..173

ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO A PARTIR DE RESÍDUOS PROVENIENTES DO SISTEMA DIGESTIVO DO PEIXE CURIMBATÁ

Samille Henriques Pereira

Renata Carolina Zanetti Lofrano

Boutros Sarrouh

DOI 10.22533/at.ed.88621052117

CAPÍTULO 18..185

LEVANTAMENTO DA INCIDÊNCIA DE DOENÇAS NA CULTURA DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea*.) NA COMUNIDADE DA VILA DE PACAJÁ E GUAJARÁ NO MUNICIPIO DE CAMETÁ /PA

André de Carvalho Gomes

Brenda Suelli Alves Gomes

David Pantoja Ribeiro

Lucas Rodrigues Pereira

Maxlene Rocha da Costa

Meirevalda do Socorro Ferreira Redig

Rafael Coelho Ribeiro

Elessandra Laura Nogueira Lopes

Antônia Benedita da Silva Bronze

Omar Machado de Vasconcelos

Marcos Augusto de Souza Gonçalves

Harleson Sidney Almeida Monteiro

Viviandra Manuelle Monteiro de Castro Trindade

Sinara de Nazaré Santana Brito

DOI 10.22533/at.ed.88621052118

CAPÍTULO 19..194

NANOPARTÍCULAS ESTERIFICADAS DE FÉCULA DE MANDIOCA

Francy Magdalena Zambrano Sarmiento Cônsole

Pamela Prodocimo Fonseca
Manuel Salvador Vicente Plata-Oviedo
Deusmaque Carneiro Ferreira

DOI 10.22533/at.ed.88621052119

CAPÍTULO 20..200

PATULINA E OS PROBLEMAS NA INDÚSTRIA DA MAÇÃ: UMA VISÃO GERAL

Ingrid Duarte dos Santos
Rosana Colussi
Roger Wagner
Ionara Regina Pizzutti
Rosselei Caiel da Silva
Bruna Klein
Stephanie Reis Ribeiro
Marlos Eduardo Zorzella Fontana

DOI 10.22533/at.ed.88621052120

CAPÍTULO 21..214

PESQUISA DE MERCADO: EMBALAGEM DE ALIMENTOS FEITA A PARTIR DA FLOR DA BANANA E FIBRA DE COCO, REVESTIDA COM CERA DE ABELHA E ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM E ORÉGANO

Sarah da Costa Santos
Daniel Saraiva Lopes
Júlio da Silveira Ornellas
Christyane Bisi Tonini
Fabrício Barros Gonçalves

DOI 10.22533/at.ed.88621052121

CAPÍTULO 22..219

ANÁLISE REOLÓGICA DO AZEITE DE BOCAIUVA *(Acrocomia aculeata)* E DO AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM

Thomas Ken Konishi
Maycon Roberto da Silva
Sueli Marie Ohata

DOI 10.22533/at.ed.88621052122

CAPÍTULO 23..234

SAÚDE HUMANA: É CORRETO HAVER FISCALIZAÇÃO PARA *Salmonella* spp. E NÃO HAVER PARA *Campylobacter* spp.?

Caroline Stéfani Plank
Thaís Biasuz

DOI 10.22533/at.ed.88621052123

CAPÍTULO 24..243

SIMULAÇÃO DO FRACIONAMENTO DE SUBPRODUTO DO REFINO DO ÓLEO DE SOJA

Elinéia Castro Costa
Nélio Teixeira Machado
Marilena Emmi Araujo

DOI 10.22533/at.ed.88621052124

SOBRE AS ORGANIZADORAS..255

ÍNDICE REMISSIVO...256

CAPÍTULO 1

A IMPLANTAÇÃO DO SISTEMA APPCC NUMA SORVETERIA DA BAIXADA SANTISTA

Data de aceite: 03/05/2021

Rafael Martins Gomes
Professor Escola Técnica Estadual de Praia Grande

Antonio Enésio de Sousa
Aluno Escola Técnica Estadual de Praia Grande

Felipe Alencar Machado
Aluno Escola Técnica Estadual de Praia Grande

Thifany Souza Campos
Aluna Escola Técnica Estadual de Praia Grande

Vitoria Reis Bottura
Aluna Escola Técnica Estadual de Praia Grande

RESUMO: Os problemas no ramo alimentício, como as contaminações, crescem durante o verão e consequentemente, o nível de intoxicação de seus consumidores. Logo torna-se possível enxergar a defasagem na sistemática de segurança alimentícia, vindo a ser necessário o estudo de novos meios de prevenção dos alimentos, almejando assegurar a saúde do cliente e o eficiente funcionamento das empresas atuantes, especialmente na cidade de Praia Grande, cujos comércios são mais ativos no verão. Mediante aos diversos problemas da área alimentícia, é visto a existência de um grande risco a saúde do consumidor e as organizações que sofrem com tal irresponsabilidade. Há riscos de disfunções nas linhas de produções, que necessitam de recursos ou fatores sistêmicos para prevenir essas possíveis falhas. O presente trabalho usará a metodologia de pesquisa exploratória, extraindo informações sobre os problemas encontrados no desenvolvimento do projeto, a fim de aplicar o sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) como solução e provocar uma reação em cadeia por parte das outras empresas locais, com o intuito de adquirirem o sistema eficaz. Para guiar o trabalho, serão utilizadas técnicas de documentação direta e indireta, assim como observação direta extensiva com o uso de análise de conteúdo e pesquisa de mercado com questões quantitativas e qualitativas.

PALAVRAS-CHAVE: APPCC, Alimento, Segurança.

1 | INTRODUÇÃO

As empresas alimentícias tendem a ser mais expostas a perigos de contaminação, até mesmo na indústria do sorvete, que por ser um produto congelado possa parecer isento de altos níveis de perigos, mas caso haja falhas durante seu processo de fabricação, micro-organismos podem estar presentes e suscitar danos a quem o consumir.

De acordo com o artigo disponível no site Sorvedoces publicado no ano de 2019 o consumo médio do produto atualmente chega a

5,44 litros por ano para cada pessoa. Número esse que dobrou os registros no ano 2000. Diante dessa alta demanda, as organizações devem se preocupar com a segurança de seu produto e a imagem que a falta ou aquisição dela pode gerar. Por essas razões, sistemas da gestão de qualidade devem ser implementados, como o APPCC - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle pautado na Portaria número 46, de 10 de fevereiro de 1998, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 1998) a Portaria 1428, de 26 de novembro de 1993 do Ministério da Saúde – MS (BRASIL, 1993) e esse sistema é acompanhado de pré-requisitos como a BPF - Boas Práticas de Fabricação e o POP- Procedimento Operacional Padrão. O programa APPCC controla o processo e não o produto, prevenindo e não corrigindo falhas, evitando custos por indenizações, multas por órgãos fiscalizadores do governo e perda de confiabilidade do produto (BORSZCZ, 2002 apoud SENAI/CNI/SENAC)

Essas ferramentas são eficazes principalmente para aquelas empresas que possuem seu processo completo no mesmo estabelecimento, como é o caso da Sorveteria Giselle de France, localizada na Cidade de Praia Grande no estado de São Paulo, que fabrica e vende seus sorvetes no mesmo local.

O principal objetivo do estudo é compreender e divulgar uma ferramenta de prevenção alimentícia para proprietários de pequenas empresas locais, com a finalidade de promover um aumento na segurança dos alimentos e assim diminuir riscos à saúde do consumidor.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O método utilizado para chegar a esse resultado é a pesquisa exploratória, onde será utilizado o levantamento de informações sobre os problemas encontrados no desenvolvimento do projeto, com a finalidade de aplicar o sistema APPCC como solução. Esses dados poderão ser quantitativos ou qualitativos.

Para finalidades de pesquisa, uma sorveteria da cidade de Praia Grande, concordou em fornecer informações sobre seu processo de fabricação para a elaboração do trabalho. A empresa que atua no mercado desde 1981, se encontra em um dos bairros nobres da cidade e conta com um estilo de produção artesanal. A sorveteria é referência em sua área de atuação pela qualidade, variedade de sabores dos sorvetes e açaí e o tempo em que está na mesma localidade, o que a torna uma das sorveterias mais antigas da cidade.

O sistema APPCC, diferente de como se conhece hoje, tem grande importância desde a segunda metade do século XX, pela grande inovação na área alimentícia. Desde seu lançamento, tanto sua definição quanto sua composição foram alteradas. Primordialmente criado para auxiliar na produção de alimentos para viagens espaciais, a ferramenta entrou no mercado quando se deu conta de que ela poderia ser usada como um impulso competitivo, pois ela garantia a segurança de seus consumidores.

Durante sua existência diversas foram suas definições, mas a que define com mais clareza é a de Merle D. Pierson e Donald A. Corllet, Jr. (1992) que descrevem o APPCC como um sistema preventivo de controle de qualidade. Onde a Análise de Perigos envolve um estudo sistemático dos ingredientes, do produto alimentar, das condições de processamento, do tratamento, do armazenamento, da embalagem e da distribuição. Essa análise permite a identificação de possíveis áreas de perigo no fluxo produtivo. Essas informações levam a determinação dos Pontos Críticos de Controle. Estes são quaisquer pontos na cadeia de produção, desde a matéria-prima até o produto finalizado, onde a perda de controle resultaria em um risco inaceitável à segurança do alimento.

De acordo com o artigo “Utilização de APPCC na indústria de alimentos” escrito por Furtini e Abreu , publicada em 2006 pela editora UFLA a ferramenta entra no Brasil na década de 90 após um acordo internacional para a padronização de produção alimentícia, a ISO 9001, sofrendo uma pequena adaptação para atender as necessidades nacionais. O encarregado de ajustar o sistema no país foi o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que prescreveu para a implementação da ferramenta que as empresas deviriam seguir os Procedimentos Operacionais Padrões (POP), as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e os Procedimentos Padrões de Higiene Operacionais (PPHO). Esses regulamentos garantem a segurança dos alimentos no setor de fabricação, além de assegurar um certificado de confiabilidade.

Ainda de acordo com o artigo apesar das variações, a escolha da equipe foi seguir o APPCC nacional para o embasamento do trabalho, e a principal fonte do projeto foi o Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle, que por sua vez teve como fonte principal a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que em 1993, traz como objetivo do sistema “avaliar a eficácia e efetividade dos processos, meios e instalações, assim como dos controles utilizados na produção, armazenamento, transporte, distribuição, comercialização e consumo de alimentos [...] de forma a proteger a saúde o consumidor.”.

Foram consideradas, e comparadas, as modificações realizadas pelas Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) da ANVISA, e a Cartilha de Boas Práticas de Fabricação Na Indústria de Gelados Comestíveis do SEBRAE.

Em continuação a referência artigo ao órgão responsável pela adaptação da ferramenta em solo nacional foi o MAPA, que em 1998, tornou obrigatório a implantação do sistema nas indústrias alimentícias. Todo o processo de implantação pode ser visto com base nos 14 Etapas do MAPA, os quais serão listados a seguir. Todos os formulários que devem ser preenchidos são disponibilizados pela EMBRAPA, e estão disponíveis em seu website.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÕES

Por meio da pesquisa exploratória tornou-se possível extrair as informações usadas, e posteriormente aplicar na parte teórica os 7 princípios do plano APPCC na sorveteria Gisele de France.

Através da ferramenta aplicada foram enfocados durante a pesquisa, pontos como a capacitação de manipulação de alimentos e higiene para os funcionários da sorveteria e também o processo de esterilização da matéria prima, por meio da pasteurização, essas médias afastam riscos microbiológicos e atingi as metas de segurança e qualidade no processo de produção da Sorveteria.

Na análise, mostrou-se a falta de uma câmara frigorífica, porém esse ponto crítico foi controlado a partir da ação de alocar todos os sorvetes nos freezers fechados que chegam a até -18° e suprem todas as necessidades do estabelecimento.

3.1 As etapas

O primeiro pré-requisito é a formação da equipe APPCC, que deve estar familiarizada com os alimentos produzidos, o local de fabricação e os métodos utilizados na empresa. Na identificação da empresa, é a etapa dedicada a obter uma visão completa da empresa em questão. Segundo o MAPA (BRASIL, 1998) os principais dados que devem estar presentes na identificação, são:

> nome da empresa responsável (razão social); endereço completo (localização, CEP, fone, fax, telex, caixa postal); nº de registro no SIF; categoria do estabelecimento; relacionar produtos elaborados; destino da produção: mercado nacional; mercado internacional (países importadores).

A próxima etapa é conferir se a empresa está atendendo aos requisitos necessários para fabricação de alimentos e se atende as normas corretamente. Essa avaliação é realizada com base no Manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF) descrito na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 267 de 25 de setembro de 2003, da ANVISA Em seguida é realizado o programa de capacitação técnica, que deve ser realizado com todos os colaboradores da indústria. Além disso, a empresa possui o dever de garantir que todos participem ao facilitar suas participações em treinamentos. Após a aplicação dos princípios, toda documentação do plano deve ser encaminhada para auditoria, e então a aprovação, implantação e validação do plano APPCC.

3.2 Os 7 princípios



Figura 1- Os 7 Princípios do APPCC.

Fonte: Própria

3.2.1 Aplicação do Princípio 1

A análise de perigos (1º princípio) é quando as etapas do processo são listadas e todos os riscos, severidades e perigos são identificados. É função da equipe APPCC listar os perigos que possam vir a ser minimizados, evitados, controlados ou eliminados: Entre eles, estão os perigos químicos, físicos e biológicos.

Ainda, para aumentar ao máximo a segurança do consumidor, algumas indústrias listam perigos biológicos, físicos e químicos que não são controlados por seu estabelecimento, mas sim a quem fornecem.

3.2.2 Aplicação do Princípio 2

Os Pontos de Controle (PCs) são qualquer ação que reduza ou elimine os possíveis riscos na produção e assim, controle o perigo. Já os Pontos Críticos de Controle, (PCCs), são apontados quando as medidas corretivas e de controle devem ser tomadas na etapa em questão, nunca em um período posterior. Não existe um número ideal de PCs ou PCCs, mas quanto menores os índices, melhor, pois índices elevados podem indicar que a indústria em questão possui um sistema precário.

3.2.3 Aplicação do Princípio 3

Segundo ao site BSI que relata que na ISO 22000, o estabelecimento de limites críticos é o "Critério que separa a aceitação da rejeição". Os LCs, quando dentro dos parâmetros, indicam que o PCC está controlado. Porém, quando ultrapassado, indica que o alimento é inseguro.

Os limites críticos e de segurança estão ligados a medidas como, por exemplo, temperatura, tempo, acidez, pH, pressão, umidade, atividade de água, concentração salina, cloro residual livre, viscosidade, preservativos, textura, aroma e peso líquido. MAPA (BRASIL, 1998).

3.2.4 Aplicação do Princípio 4

Os procedimentos de monitoramento são realizados com o objetivo de evitar perdas no controle do PCC o mais rápido possível, para que haja tempo suficiente para as ações corretivas serem colocadas em prática antes dos alimentos serem vendidos ou distribuídos.

3.2.5 Aplicação do Princípio 5

Este princípio é conhecido como a etapa de Estabelecimento de Ações Corretivas. Conforme o Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (2012, p. 57) "A ação corretiva deverá ser imediatamente realizada após um desvio (exemplo: valor medido está fora do limite crítico) e ele deverá ser corrigido para que o perigo retorne a ser controlado." A portaria Nº 46 do MAPA (BRASIL, 1998) cita alguns exemplos de ações corretivas especificas, como recalibrar equipamentos, rejeitar a matéria-prima ou até mesmo reprocessar.

3.2.6 Aplicação Princípio 6

O sexto princípio é a etapa de estabelecimento de documentações, aqui o Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (Silveira, Dutra. 2012, p. 59) determina que "todos os dados e informações obtidos durante os procedimentos de observação, anotação, deverão ser registrados e arquivados em formulários próprios, devidamente padronizados para cada estabelecimento."

3.2.7 Aplicação do Princípio 7

O sétimo e último dos princípios é o procedimento de verificação, e esta etapa possui dois objetivos. O primeiro é organizar as informações transformando-as em relatórios, gráficos ou tabelas para a uma melhor leitura, os resultados desses relatórios poderão resultar em uma reformulação do plano APPCC. O segundo objetivo é monitorar o plano APPCC para revisão dos PCCs, dos LCs e das ações corretivas.

3.3 Importância para a logística

Segundo Lacerda (2002“Usualmente pensamos em logística como o gerenciamento do fluxo de materiais do seu ponto de aquisição até o seu ponto de consumo [...] (LACERDA LEONARDO, Rio de Janeiro: COPPEAD/UFRJ 6, 2002.)

O sistema tem um grande impacto na logística, por abranger desde a área de coleta e seleção dos insumos, até a entrega ao consumidor final, isso a coloca em lugar de grande importância e destaque para o desenvolvimento contínuo da aplicação do APPCC. A implementação do sistema na empresa traz redução de custos, pois prevê possíveis gargalos no processo produtivo, o que evita desperdícios de matéria-prima e que haja gastos na repetição de um mesmo processo. Já na atividade de movimentação, seja ela interna ou externa, a utilização da ferramenta auxilia na manutenção da integridade do produto, para que não sejam prejudiciais a nenhuma das partes envolvidas, sejam elas empresas ou clientes.

4 I CONCLUSÕES

A implementação do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle em empresas alimentícias é fundamental para garantir a segurança e qualidade dos alimentos, através da análise e controle de todo o processo produtivo. Por conseguinte, são elevados os níveis de satisfação dos consumidores, cada vez mais informados e exigentes.

A ferramenta está rapidamente se tornando um instrumento necessário no ramo alimentício já que gera maior posicionamento e competitividade em meio ao mercado, pois o sistema vem com a proposta objetiva e eficaz de minimizar quais quer erros na cadeia de produção. A empresa que adota o APPCC e obtém a certificação transmite confiança aos clientes, por saberem que ali será encontrado um produto seguro e qualificado.

Foi visto que esse sistema de gestão vem acompanhado de outros pré-requisitos essenciais como o POP, MRA e a ISO 22000, que o auxiliam na realização de resultados completos e eficazes.

A análise realizada na empresa em questão, com o auxílio integral do sistema APPCC, pode ser feita, com algumas adequações, em diferentes produtoras de sorvetes.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Associação Brasileira das Normas Técnicas. ISO 9001. Sistema de Gestão de Qualidade Disponível em: http://www.jupitersp.com.br/wp-content/uploads/2018/10/ISO_9001.pdf.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1428, de 26 de novembro de 1993. Aprova o “Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos”, as “Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos” e o “Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ’s) para Serviços e Produtos na Área de Alimentos. Disponível em: https://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/Portaria_MS_n_1428_de_26_de_novembro_de_1993.pdf/6ae6ce0f-82fe-4e28-b0e1-bf32c9a239e0.

BSI. ISO 22000 - Gestão de Segurança de Alimentos. Disponível em: https://www.bsigroup.com/pt-BR/ISO-22000-Seguranca-de-Alimentos/

FUTINI, Larissa R. ABREU, Luiz R. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542006000200025

PIERSON, Merle D. CORLETT Jr, Donald A. HACCPP: Principles and Applications. Great Britain. ed. Champman & Hall. 1992. p 13.

SEBRAE. Cartilha de Boas Práticas de Fabricação na Indústria de Gelados Comestíveis. Disponível em: https://bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/18e69ee9eca639b33372eefdf6ecfb4e/$File/7574.pdf#:~:text=Os%20gelados%20comest%C3%ADveis%20podem%20ser,%2C%20aromatizantes%2C%20estabilizantes%20e%20emulsificantes.

SILVEIRA, Ana V. M.; DUTRA, Paulo R. S.. Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle. Disponível em: http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-

SORVEDOCES. Mercado De Sorvetes: Quais as Tendências e Como se Destacar? Disponível em: http://www.sorvedoces.com.br/post/6/MERCADO-DE-SORVETES--QUAIS-AS-TENDENCIAS-E-COMO-SE-DESTACAR-#:~:text=De%20acordo%20com%20a%20ABIS,em%20um%20mercado%20em%20expans%C3%A3o.

CAPÍTULO 2

ANÁLISE SOCIOECONÔMICA DO CONSUMIDOR DE PESCADO DO MUNICÍPIO DE TURIAÇU, LITORAL OCIDENTAL DO MARANHÃO

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 09/03/2021

Josyanne Araújo Neves
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Codó- Maranhão
http://lattes.cnpq.br/7468536050498669

Ivana Correia Costa
Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, São Luís- Maranhão
http://lattes.cnpq.br/2004437647233803

Malena Correia Costa
Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, São Luís- Maranhão
http://lattes.cnpq.br/7201221354361623

Daniele Pereira
Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, São Luís- Maranhão
http://lattes.cnpq.br/8859867705141759

Mariene Amorim de Oliveira
Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, São Luís- Maranhão
http://lattes.cnpq.br/4440724829565107

Aline de Jesus Lustosa Nogueira
Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, São Luís- Maranhão
http://lattes.cnpq.br/0885237092315016

Ellen Fernanda Monteiro Copes
Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, São Luís- Maranhão
http://lattes.cnpq.br/4208435755444997

RESUMO: O pescado é um alimento importante na dieta de inúmeros grupos populacionais. A análise do comportamento do consumidor de pescado deve ser feita com base nos fatores que influenciam a conduta da compra, tais como fatores pessoais e socioculturais. O presente estudo foi realizado em março de 2015 no município de Turiaçu, litoral ocidental do Maranhão, teve como objetivo efetuar uma análise socioeconômica dos consumidores de pescado da localidade supracitada. Os dados da pesquisa foram obtidos por meio da aplicação de questionários elaborados pelos autores. Esses foram aplicados através de entrevistas realizadas com 245 indivíduos que se declararam consumidores de pescado. Os resultados do perfil socioeconômico dos consumidores mostraram que 60% dos entrevistados eram do sexo feminino. Verificou-se que 38% tinha idade entre 26 e 35 anos, 39% possuíam apenas o ensino fundamental e 60% da população estudada possuía menos de 1 salário mínimo por mês. Quanto à ocupação a profissão predominante foi “pescador” (42%), no entanto, 45% do público afirmou ser pertencente à categoria “outra ocupação”, dentre essas profissões estão os lojistas, servidores públicos, representantes comerciais e lavradores, respectivamente. Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que o público objeto da pesquisa é composto

majoritariamente por mulheres, com a predominância de pessoas jovens, exercem o oficio de pescador, possuem baixa renda e baixo nível de escolaridade.
PALAVRAS-CHAVE: Inquéritos e Questionários, Percepção Social, Consumo de Alimentos.

SOCIOECONOMIC ANALYSIS OF THE FISH CONSUMER IN THE MUNICIPALITY OF TURIAÇU, WESTERN COAST OF MARANHÃO

ABSTRACT: Fish is an important food in the diet of countless population groups. The analysis of the behavior of the consumer of fish must be made based on the factors that influence the conduct of the purchase, such as personal and socio-cultural factors. The present study was carried out in March 2015 in the municipality of Turiaçu, western coast of Maranhão, and aimed to carry out a socioeconomic analysis of fish consumers in the aforementioned location. The research data were obtained through the application of questionnaires prepared by the authors. These were applied through interviews with 245 individuals who declared themselves to be fish consumers. The results of the socioeconomic profile of consumers showed that 60% of respondents were female. It was found that 38% were aged between 26 and 35 years, 39% had only elementary education and 60% of the population studied had less than 1 minimum wage per month. Regarding occupation, the predominant profession was “fisherman” (42%), however, 45% of the public stated that they belong to the “other occupation” category, among these professions are shopkeepers, civil servants, commercial representatives and farmers, respectively. Based on the results obtained, it can be concluded that the public object of the research is composed mainly of women, with the predominance of young people, who exercise the profession of fisherman, have low income and low level of education.
KEYWORDS: Surveys and Questionnaires, Social Perception, Food Consumption.

1 | INTRODUÇÃO

No Brasil, há uma grande disponibilidade de recursos hídricos para incrementar a produção de pescado. Essa disponibilidade auxilia na produção de peixes por meio da aquicultura, uma das atividades agropecuárias com maior potencial de crescimento e que possui um significativo papel socioeconômico, contribuindo para a geração de emprego e renda em todo o país (KIRCHNER et al., 2016).

O Brasil possui capacidade para produção elevada de pescado, alimento que contém a proteína animal mais consumida no mundo (EMBRAPA, 2020). O consumo de pescado no Brasil reflete diferenças regionais quanto ao poder aquisitivo da população, quantidade e qualidade ofertada, conservação, preços, alternativas para produtos substitutos e hábito alimentar (LOPES et al., 2010).

Em nível regional, os maiores consumidores de pescado são os indivíduos de renda mais baixa, na região Norte e Nordeste, isso se dá devido a maior disponibilidade desse alimento, e os de renda intermediária, no Centro-Sul do país (SONODA, 2006; SARTORI, AMÂNCIO, 2012).

Estima-se que o consumo desse alimento representa cerca de 17% da ingestão de proteína animal (BRASIL, 2013; EMBRAPA, 2020). Apesar do grande potencial econômico e das vantagens oriundas desse tipo de alimentação, ainda existe um consumo abaixo do que é recomendado pela Organização Mundial da Saúde (12kg/habitante/ano), isso se dá devido à alguns fatores como, o custo elevado, baixa oferta de peixes no mercado e nível de renda do consumidor (LOPES, OLIVEIRA, RAMOS, 2016; FORNARI et al., 2017).

O comportamento dos consumidores e os hábitos alimentares da população estão passando por mudanças em consequência da intensificação do trabalho feminino, da busca por uma alimentação mais saudável, da globalização e da urbanização. Dessa forma, a tendência dos consumidores é buscar alimentos mais saudáveis, inclusive aqueles funcionais e livres de colesterol, como também alimentos com maior praticidade no preparo e mais baratos (PINTO et al., 2011; LELIS, TEIXEIRA E SILVA, 2012).

No Brasil, o universo de consumidores de pescado divide-se em dois polos distintos: a população de baixa renda, que habita regiões ribeirinhas e litorâneas, e a de alta renda, que tem no pescado um alimento alternativo considerado como *diet, soft ou light*, o qual permite manter uma dieta rica em nutrientes e com baixos índices calóricos (GERMANO, GERMANO, 2011; SILVA et al., 2012).

Na região Nordeste do Brasil, o Maranhão destaca-se como um dos maiores produtores de pescado. Em 2014, a produção de pescado no estado foi de 17.717 toneladas, o que o levou a ser considerado o segundo maior produtor da região (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2014b). No município de Turiaçu, localizado no estado, a pesca é uma das principais fontes de renda, tendo grande relevância para o cenário econômico local (CORREIA FILHO et al., 2011). Desse modo, o objetivo do estudo foi realizar uma análise socioeconômica dos consumidores de pescado do município de Turiaçu, Maranhão, Brasil.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido no município de Turiaçu, localizado na mesorregião oeste maranhense dentro da microrregião do Gurupi (SERVIÇO GEOLÓGICO DO BRASIL, 2011). Tal localidade possui 33.933 habitantes e uma área territorial de 2.578,497 km^2, limita-se ao norte com o oceano Atlântico, ao sul com Turilândia, ao leste com Bacuri e ao oeste com Godofredo Viana (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2014a).



FIGURA 1 - Localização do município de Turiaçu, MA

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2014

2.2 Coleta de dados

O levantamento de dados foi efetuado em março de 2015, por meio da aplicação de questionários de elaboração própria. Esses foram aplicados através de entrevistas realizadas com indivíduos que se declararam consumidores de pescado, os quais possuíam faixa etária entre 18 e 75 anos e eram de ambos os sexos, todos habitantes do município supracitado. A abordagem dos entrevistados foi feita de forma aleatória, sendo sua participação mediante a assinatura prévia de um termo de consentimento, livre e esclarecido.

Para a elaboração dos questionários, efetuou-se uma revisão bibliográfica priorizando-se informações sobre o perfil socioeconômico do consumidor de pescado. Os questionários continham seis indagações objetivas, sendo a última com enfoque também subjetivo.

Para a obtenção do número de questionários a serem aplicados (amostra representativa), utilizou-se um cálculo estatístico (Equação 1), com intervalo de confiança de 95%, considerando a proporção de ocorrência de 80% e de não ocorrência de 20% para uma população finita (33.933 habitantes) admitindo margem de erro máxima de 5% (SAMARA, BARROS, 2002).

$$n = \frac{\partial^2 * p * q * N}{e^2 * (N-1) + \partial^2 * p * q} \qquad \text{Equação 1}$$

Onde:

n= amostra calculada

∂= nível de confiança

p= proporção de ocorrência da variável em estudo na população

q= proporção de não ocorrência da variável em estudo na população

N= população

e= erro máximo admitido

A partir desse cálculo encontrou-se n = 245. Com o intuito de complementar o estudo, paralelamente à aplicação dos questionários foram obtidas informações por meio de observações diretas e diálogos com os entrevistados.

2.3 Análise dos dados

Os dados coletados foram digitados em planilhas eletrônicas do programa Microsoft Office Excel 2007 e a partir da análise dos dados foi elaborada uma tabela para apresentar os resultados obtidos na pesquisa.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela abaixo, estão listadas as características socioeconômicas da amostra estudada.

Características socioeconômicas	População	
	Nº [1]	%
Total da amostra	**245**	**100%**
Sexo		
Masculino	99	40%
Feminino	146	60%
Estado civil		
Solteiro (a)	91	37%
Casado (a)	154	63%
Idade (anos)		
18-25	51	21%
26-35	92	38%
36-45	40	16%
46-55	24	10%
>55	38	16%
Nível de escolaridade		
Analfabeto	6	2%
Ensino fundamental	96	39%
Nível médio completo	85	35%
Nível médio incompleto	30	12%
Nível superior	28	11%

Tabela 1 - Características socioeconômicas dos consumidores de pescado do município de Turiaçu, MA, 2015 (n=245)

1. Número de entrevistados

Do total de 245 entrevistados, foi observado que o maior percentual correspondeu ao sexo feminino (60%), conforme a Tab. 1. Esse resultado foi similar ao encontrado nos estudos de Melo (2018) e Pereira e Elias (2021), no qual 65% e 54,46%, respectivamente, da população pesquisada era do gênero feminino.

Melo (2018) acredita que essa porcentagem maior do público feminino pode estar relacionada com a questão populacional, além do que, nos dias atuais, a mulher continua possuindo um papel notável sendo a principal responsável pela escolha e aquisição de alimentos que farão parte do cardápio alimentar diário da família, regulando e definindo o que irá ser submetido ao consumo familiar.

No presente estudo, o estado civil dominante foi casado (63% da população estudada). Porém, Medeiros Filho, Falcão e Barros (2018) encontraram resultado diferente, onde somente 21,8% do público entrevistado era casado. Diante dos resultados anteriores da presente pesquisa, verificou-se a prevalência de mulheres casadas na amostra estudada.

Com relação à faixa etária, a maioria dos entrevistados respondeu ter entre 26 e 35 anos (Tab. 1). Além disso, por meio dos diálogos efetuados, os entrevistados afirmaram que possuem o hábito de consumir pescado desde a infância. Esse resultado foi semelhante ao encontrado nos estudos de Lopes et al. (2020), onde a maioria dos entrevistados respondeu ter entre 29 e 39 anos de idade. Porém, Xavier, Peixoto e Franque (2013) obtiveram resultados divergentes, visto que o maior número de consumidores possuía idade acima de 56 anos.

A respeito do nível de escolaridade, observou-se prevalência do ensino fundamental (TAB 1). Semelhante resultado foi apontado por Silva e Oliveira (2017), onde 43% de seus entrevistados concluíram no máximo o ensino fundamental mostrando que o baixo grau de escolaridade tal qual nesta pesquisa é predominante. Meireles et al. (2017) ao entrevistarem pescadores em uma comunidade pesqueira observou que 69,24% dos entrevistados possuem o ensino fundamental, seguido de não escolarizados (25,64%) e somente 5,12% concluíram o ensino médio.

Os dados referentes à renda familiar dos consumidores de pescado estão expressos na Figura 2.

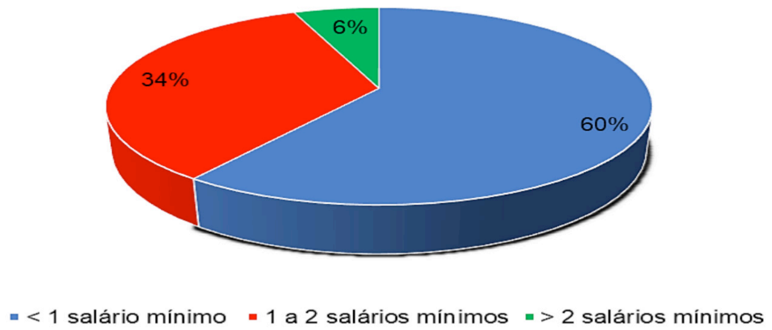


Figura 2- Dado socioeconômico: renda familiar dos consumidores de pescado do município de Turiaçu, MA, 2015 (n=245)

A renda familiar dos entrevistados foi baseada no salário vigente do ano de 2015 (R$788), a maioria dos entrevistados afirmou dispor de menos de um salário mínimo por mês. Brabo et al. (2018) ao analisarem dois municípios da região amazônica do Brasil, observaram que em ambos os municípios os consumidores de pescado possuem um baixo poder aquisitivo, variando entre inferior a um salário mínimo e dois salários mínimos.

Dados diferentes foram encontrados por Tavares et al. (2013) em Belo Horizonte MG, no qual a predominância foi de um a quatro salários mínimos, a discrepância nos resultados entre as pesquisas pode ser justificada pelo fato de que os estudos foram realizados em regiões geográficas com problemáticas econômicas e sociais distintas. A renda declarada pelos consumidores entrevistados nesta pesquisa é proveniente da pesca e de programas sociais do governo Federal, tal como o seguro defeso.

Os dados relativos à ocupação dos entrevistados da localidade analisada estão apresentados na Figura 3.

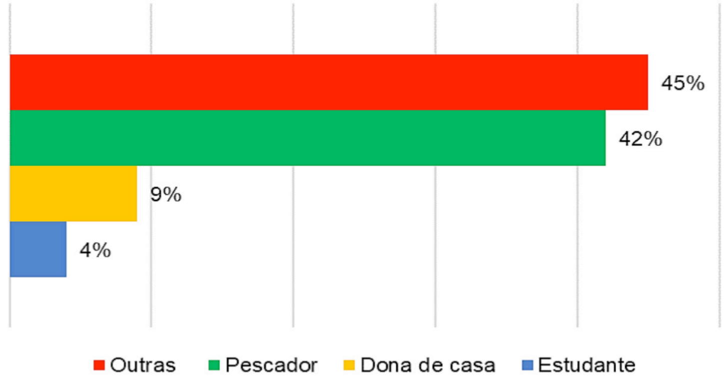


FIGURA 3- Dado socioeconômico: ocupação dos entrevistados do município de Turiaçu, MA, 2015 (n=245)

Ao serem questionados acerca da ocupação, observou-se que a categoria “outra ocupação” foi majoritária entre os entrevistados. Os outros ofícios que foram citados pelos consumidores, em ordem crescente, foram: lojista, servidor público, representante comercial e lavrador. A profissão “pescador” foi predominante entre os consumidores de pescado da região, isso se justifica pelo fato de o município analisado possuir elevado potencial pesqueiro, sendo que a pesca exerce notória influência na vida das pessoas e consequentemente na economia local.

Xavier, Peixoto e Franque (2013) encontraram “donas de casa” como a ocupação majoritária com 24% do total de 142 consumidores, ressalta-se que foram oito profissões avaliadas pelos autores. Brabo, et al. (2018) por sua vez observaram que os consumidores entrevistados em sua maioria apresentaram a agricultura como principal ocupação.

Alguns estudos têm sugerido associação entre a escolaridade e a ocupação tanto do consumidor de pescado quanto do pescador. De acordo com Meireles et al. (2017), em sua pesquisa com pescadores os mesmos observaram que 48,71% dos entrevistados declararam viver exclusivamente da pesca. Visto que, a pesca foi à única profissão que lhes foi ensinada, muitos inclusive desistiram de ir à escola pelo fato de o horário das aulas coincidirem com o horário da atividade pesqueira ou esta demandar um grande esforço físico, deixando-os cansados para os estudos.

Essa realidade é vista principalmente em comunidades cuja pesca é a única forma de obtenção de renda e principal atividade econômica desenvolvida (PEREIRA et al, 2010; MEIRELES et al, 2017). Tais informações podem justificar a baixa escolaridade prevalente entre os entrevistados, uma vez que a ocupação “pescador” foi predominante no presente estudo.

4 | CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui- se que a população analisada neste estudo possui em geral baixa renda e baixo nível de escolaridade, além de ser majoritariamente jovem. A prevalência do sexo feminino é um dado relevante, uma vez que, como foi abordado, as mulheres têm ocupado cada vez mais o mercado de trabalho e isso vem influenciando nos hábitos alimentares.

O fato da maioria dos entrevistados ter como profissão “pescador” foi um resultado de certa forma esperado, visto que o município possui um notório poder pesqueiro na região. Desse modo, espera-se que os resultados encontrados auxiliem o conhecimento acerca dos aspectos socioeconômicos dos consumidores desse tipo de alimento.

REFERÊNCIAS

BRABO, M. F. et al. **Perfil do consumidor de pescado em dois municípios do litoral amazônico brasileiro: uma análise com foco em produtos da piscicultura, ano de 2017**. RV. Informações Econômicas, SP, v. 48, n. 1, jan./mar. 2018.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Balanço, 2013 Pesca e Aquicultura**. 2013.

CORREIA FILHO, F. L. et al. **Projeto Cadastro de Fontes de Abastecimento por Água Subterrânea, estado do Maranhão: relatório diagnóstico do município de Turiaçu.** Teresina: CPRM - Serviço Geológico do Brasil, 2011, 31 p.

EMBRAPA. **O protagonismo do Brasil na produção mundial de pescado.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53738345/artigo---o-protagonismo-do-brasil-na-producao-mundial-de-pescado>. Acesso em: 03 mar. 2021.

FORNARI, C. A. C. et al. Estudo sobre os hábitos alimentares e de consumo de pescado da população de Palmas (TO). **Revista Desafios** – v. 04, n. 04, 2017.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Manole, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2014. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br>. Acesso em: 29 jul. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção pecuária municipal.** Rio de Janeiro, v. 42, p.1-39, 2014.

KIRCHNER, R. M. et al. **Análise da produção e comercialização do pescado no Brasil**. Revista Agro@mbiente On-line**,** v. 10, n. 2, p. 168 - 177, 2016.

LELIS, C. T.; TEIXEIRA, K. M. D.; DA SILVA, N. M. **A inserção feminina no mercado de trabalho e suas implicações para os hábitos alimentares da mulher e de sua família**. Saúde em Debate, v. 36, n. 95, p. 523-532, 2012.

LOPES, I. G.; DE OLIVEIRA, R. G.; RAMOS, F. M. **Perfil do consumo de peixes pela população brasileira.** Biota Amazônia**,** v. 6, n. 2, p. 62-65, 2016.

LOPES, L. R. et al. **Dimensões associadas ao consumo de pescado na região metropolitana de Belém – PA**. Revista Contribuciones a las Ciencias Sociales, 2020.

MEDEIROS FILHO, G. F.; FALCÃO, M. T.; BARROS, A. M. **Diagnóstico Sócioeconomico dos Pescadores da Sede de Caracaraí-RR**. Reunião Regional da SBPC em Boa Vista. 2018. Disponível em: http://www.sbpcnet.org.br/livro/boavista/resumos/1289.htm. Acesso em: 02 mar. 2021.

MEIRELES, M. P. A. et al. **Perfil socioeconômico dos pescadores artesanais da comunidade Passarinho, Resex Marinha do Delta do Parnaíba, Araioses/MA**. Revista ESPACIOS, v. 38, n. 13, p. 16, 2017.

MELO, A. C. S. **Perfil do Consumidor de Peixe no Municipio de Boa Vista-RR.** Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina Veterinária. 57 f. Boa Vista, 2018.

PEREIRA, G. R.; ELIAS, M. A. **Análise do perfil dos consumidores de peixes em Gaspar (SC).** Research, Society and Development, v. 10, n. 2, 2021.

PEREIRA, T. J. F. et al. **Comercialização de pescado no Portinho em São Luís, estado do Maranhão, Brasil: Uma abordagem Socioeconômica dos trabalhadores**. Rev. Bras. Eng. Pesca, v. 5, n. 3, p. 1-8, 2010.

PINTO, R. M. et al. **Perfil do consumidor de pescado no município de Campos dos Goytacazes-RJ**. Perspectivas online, v. 1, n. 3, 2011.

SAMARA, B. S.; BARROS, J. C. **Pesquisa de Marketing: conceito e metodologia**. Ed. 3. Prentice Hall: São Paulo. 2002.

SARTORI, A. G de O.; AMANCIO, R. D. **Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil**. Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, v. 19, n. 2, p. 83-93, 2012.

SERVIÇO GEOLÓGICO DO BRASIL. **Relatório diagnóstico do município de Turiaçu**. 2011. Disponível em:<http://www.cprm.gov.br/rehi/atlas/maranhao/turiacu/Rel_Diagnostico.pdf >. Acesso em: 20 ago. 2015.

SILVA, I. A. et al. **Perfil de consumidores do pescado comercializado em mercados do município de São Luís, Maranhão, Brasil**. Cad. Pesq., v. 19, n. 1, 2012.

SILVA, J. F.; OLIVEIRA, T. R. A. **Perfil do consumidor de pescado do município de Penedo/AL, Brasil.** In: Anais do XVI Encontro Regional de Agroecologia do Nordeste, Maio de 2017, Universidade Federal de Alagoas - Rio Largo-AL.

SONODA, D. Y. **Demanda por pescados no Brasil entre 2002 e 2003**. 2006. 118f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

TAVARES, G. C. et al. **Perfil do consumo de pescado na cidade de belo horizonte, MG**. B. Indústr. anim, N. Odessa, v.70, n. 3, p. 230-236, 2013.

XAVIER, C. M. de O.; PEIXOTO, A. F.; FRANQUE, M. P. **Perfil socioeconômico dos consumidores de pescado fresco comercializados em feiras livres da cidade de Garanhuns-PE**. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 13, 2013, Recife. Anais... Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2013.

CAPÍTULO 3

APLICABILIDADE DA BACTERIOLOGIA CONVENCIONAL E BIOLOGIA MOLECULAR PARA PESQUISA DE *Listeria monocytogenes* EM LEITE UAT

Data de aceite: 03/05/2021

Polyana de Faria Cardoso

Fábio Antônio Colombo

Maria Clara Freitas de Assis

Lívia do Nascimento Santana

Sandra Maria Oliveira Morais Veiga

RESUMO: A *Listeria monocytogenes* geralmente é responsável por provocar a listeriose, que tem como principais manifestações clínicas: infecção inicial semelhante a um resfriado, com febre baixa, cefaleia, calafrios e mal-estar geral, podendo progredir para meningite, meningocefalite, septicemia, aborto ou parto prematuro. A taxa de mortalidade encontra-se na faixa de 20-30% dos casos diagnosticados. Os grupos mais susceptíveis, considerados grupos de risco, são mulheres grávidas (e seus fetos), crianças, idosos e indivíduos com o sistema imunológico comprometido. No Brasil, a *Resolução RDC ANVISA/MS n.º 12, de 02 de janeiro de 2001* (BRASIL, 2001) estabelece os padrões microbiológicos para produtos alimentícios expostos à venda, sendo que o micro-organismo *Listeria monocytogenes* deve estar ausente em 25g do alimento. A bacteriologia convencional para a pesquisa de *Listeria monocytogenes* em alimentos é complexa, envolve duas ou até três formas de enriquecimento das amostras e mesmo assim, muitas vezes, têm-se resultados frustrados. Assim, este projeto teve o objetivo de validar a técnica de biologia molecular tradicional (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) para detecção de *Listeria monocytogenes* em leite UAT (Ultra Alta Temperatura) e compará-la com a bacteriologia convencional. Para tanto, 144 amostras de leite estéreis foram artificialmente contaminadas com cepas padrões *Listeria monocytogenes* e analisadas, sob a forma de *pool,* pelas duas metodologias. Além disso, foram preparados controles positivos e negativos. O experimento teve quatro tempos de repetição e foi conduzido em triplicata. Os resultados obtidos pela metodologia da bacteriologia convencional são mais assertivos quando se quer uma análise qualitativa e quantitativa; enquanto a técnica de biologia molecular torna-se interessante para a análise qualitativa, detectando a contaminação pelo micro-organismo, mesmo em pequenas quantidades. Em seguida, verificou-se a aplicabilidade das duas técnicas propostas e adicionou-se a metodologia PCR *Real Time* para a pesquisa do micro-organismo estudado em 90 amostras de leite UAT, de 10 diferentes marcas, oriundas do comércio regional. O experimento teve três tempos de repetição e foi conduzido em triplicata. Ao analisar as amostras, sob a forma de 10 pool, apenas a metodologia PCR *Real Time* conseguiu detectar *L. monocytogenes* em uma das marcas analisadas. Assim, a biologia molecular se torna interessante para a indústria, tanto para a liberação de lotes quanto para a avaliação de higienização em linha de produção.

PALAVRAS-CHAVE: *Listeria*, Leite UAT, Microbiologia, Biologia Molecular.

ABSTRACT: *Listeria monocytogenes* is usually responsible for causing listeriosis, which has the following clinical manifestations: initial infection similar to a cold, with a low fever, headache, chills and general malaise, and may progress to meningitis, meningocephalitis, septicemia, abortion or parturition premature. The mortality rate is in the range of 20-30% of diagnosed cases. The most susceptible groups, considered at-risk groups, are pregnant women (and their fetuses), children, the elderly, and individuals with compromised immune systems. In Brazil, Resolution RDC ANVISA / MS No. 12, of January 2, 2001 (BRAZIL, 2001) establishes the microbiological standards for food products exposed to the sale, and the microorganism *Listeria monocytogenes* should be absent in 25g of the food. Conventional bacteriology for the detection of *Listeria monocytogenes* in food is complex, involves two or even three forms of enrichment of the samples and even then, many times, frustrated results have been obtained. The aim of this project was to validate the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique for the detection of *Listeria monocytogenes* in Ultra High Temperature (UHT) milk and to compare it with conventional bacteriology. For this, 144 samples of sterile milk were artificially contaminated with standard strains *Listeria monocytogenes* and analyzed as a pool by the two methodologies. In addition, positive and negative controls were prepared. The experiment had four replicate times and was conducted in triplicate. The results obtained by the methodology of conventional bacteriology are more assertive when a qualitative and quantitative analysis is required; the technique of molecular biology becomes interesting for the qualitative analysis, detecting the contamination by the microorganisms, even in small amounts. Then, the applicability of the two proposed techniques was verified and the Real Time PCR methodology was used to investigate the microorganism studied in 90 UAT milk samples from 10 different brands from the regional trade. The experiment has three replicate times and was conducted in triplicate. When analyzing the samples as a pool, only the Real Time PCR methodology was able to detect *L. monocytogenes* in one of the analyzed brands. Thus, molecular biology becomes interesting for the industry, both for the batch release and for the hygiene evaluation in the production line.
KEYWORDS: *Listeria*, Milk UHT, Microbiology, Molecular biology.

1 | INTRODUÇÃO

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria em forma de bacilo curto (0,4µm a 0,5µm de diâmetro e 0,5µm a 2µm de comprimento), Gram positivo, não esporulado presente em alimentos, causador da doença denominada listeriose. Apesar de pouco incidente, é responsável por graves complicações como meningite, septicemia e casos de aborto, apresentando um alto índice de mortalidade na população de risco, que inclui gestantes, recém-nascidos, idosos e imunodeficientes ou imunossuprimidos. Desde a década de 1980, quando a doença também foi relatada em humanos, vários estudos vêm demonstrando sua presença no leite e derivados, inclusive no leite pasteurizado e subprodutos. O micro-organismo apresenta crescimento em uma ampla faixa de temperatura (1°C – 45°C) e pH (4.3 – 9.6) e tolera concentrações salinas elevadas (≥ 10%), são móveis a temperatura de 25ºC (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY, 2005). Atualmente, são conhecidas seis

espécies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi* e *L. ivanovii*. Sendo que entre as seis espécies conhecidas, somente a *L. monocytogenes* é considerada patogênica para seres humanos. A listeriose é uma doença caracterizada por um conjunto de fatores causados pela bactéria *Listeria monocytogenes* como a septicemia, meningite, encefalite e infecção cervical ou intra-uterina. Normalmente, não é diagnosticada devido à característica de ser assintomática, sendo então, subnotificada (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY, 2005). O principal reservatório deste micro-organismo é o solo, lodo, forragem e água, estando associada à queijos, leite, carnes, peixes, frutos do mar, entre outros; o que justifica o principal modo de transmissão, a ingestão de leite contaminado, queijos, água, frutos do mar, legumes crus, dentre outros alimentos, e assim, por esse motivo é considerada uma Doença Transmissível por Alimento (DTA), (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY, 2005).

A listeriose ficou em evidência na década de 1980, como zoonose transmitida por alimentos, depois de várias ocorrências na América do Norte e na Europa. No entanto, desde 1929 a *L. monocytogene* já era conhecida como agente da listeriose (LINNAN *et al.*, 1988). Principalmente em países industrializados, a ocorrência de listeriose de origem alimentar é relatada, já em países em desenvolvimento, há poucos, ou nenhum relato. Em relação a estes dados, não se pode afirmar que não existem sistemas de pesquisa e informação ou se existem diferentes taxas de exposição, hábitos alimentares e susceptibilidade do hospedeiro ao micro-organismo. No Brasil, as informações sobre Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são bastante escassas. Um estudo realizado no Estado do Paraná, revelou que no ano de 2000 foram gastos pelo governo cerca de 2 milhões de reais, somente em internações devido às DTA. (AMSON, 2006). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) adota a Resolução RDC nº 12 de janeiro de 2001 que estabelece a ausência do patógeno *L. monocytogenes* em 25 g de amostra de alimento (BRASIL, 2011).

O método utilizado para identificação do micro-organismo *L. monocytogenes*, é a cultura, baseada em pré-enriquecimento seletivo, enriquecimento e plaqueamento. Isto é seguido pela caracterização de *Listeria* sp, usando morfologia de colônia, fermentação de açúcar e propriedades hemolíticas. Embora um resultado negativo pelo método microbiológico convencional possa ser confirmado em torno de 4 dias, o tempo para um resultado positivo é geralmente de 5 a 7 dias a partir da coleta da amostra. No entanto, como não é viável para a indústria manter produtos alimentícios por 7 dias antes da distribuição, torna-se necessário o aprimoramento de métodos mais rápidos para a detecção de *L. monocytogenes* (JANZTEN *et al.,* 2006).

Visando reduzir o tempo de espera e o erro na identificação bacteriana convencional, métodos moleculares estão auxiliando e até mesmo substituindo alguns métodos convencionais, no monitoramento da fabricação de alimentos de origem animal (ANDRADE *et al.,* 2010). Pode-se destacar a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), pela precisão e rapidez. A PCR vem sendo utilizada tanto na identificação de *L. monocytogenes* quanto

de diversos outros micro-organismos no controle microbiológico de alimentos (KIM et al., 2014).

A validação entre o método convencional e a técnica de PCR, se faz muito necessária, pois toda vez que o micro-organismo é detectado pela biologia molecular, o resultado deve ser confirmado pela metodologia convencional para atender as exigências do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2016).

A finalidade deste estudo, foi estudar principalmente a metodologia microbiológica convencional e a biologia molecular para detecção e quantificação de *Listeria monocytogenes* em leite UAT (Ultra Alta Temperatura).

2 I MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido nos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos e de Biologia Molecular da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL – Alfenas – MG, realizando-se análise comparativa entre as metodologias microbiológicas oficiais para a detecção de *Listeria monocytogenes* e a Biologia Molecular.

Foram empregadas três cepas padrão de *L. monocytogenes* (CLIST 2035 Sv.: 1/2a, CLIST 2037 Sv.: 4a, CLIST 2045 Sv.:4b), todas cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

Foram contaminadas artificialmente 144 amostras de leite Ultra Alta temperatura (UAT), todos da mesma marca, com três cepas padrões do micro-organismo *L. monocytogenes* (Cepas: CLIST 2035 Sv.: 1/2a, CLIST 2037 Sv.: 4a, CLIST 2045 Sv.:4b). Para cada etapa do experimento, foram empregadas 36 amostras, analisadas sob a forma de 9 pool, sendo três pools de cada cepa utilizada. Além dos pools, suspensões das três cepas (controle positivo) e o leite sem contaminação artificial (controle negativo) foram analisados em triplicata nos quatro tempos de repetição.

O experimento tanto pela Bacteriologia Convencional e Biologia Molecular foram realizados do mesmo modo, com a única diferença que pela Bacteriologia Convencional realizou-se a fortificação.

Posteriormente, foram analisadas 90 amostras de Leite UAT, de 10 diferentes marcas, adquiridas no comércio regional do Sul de Minas Gerais, para verificar a aplicabilidade das metodologias: Bacteriologia Convencional, PCR tradicional (Polymerase Chain Reaction – PCR) e PCR em tempo real (Real Time).

Pela metodologia microbiológica oficial, as amostras sofreram enriquecimento primário e secundário. Para o enriquecimento primário foram utilizados 25 ml das amostras de leite contaminadas para 225 ml de Caldo LEB (*Listeria Enrichment Broth*); na sequência, o conjunto foi homogeneizado e incubado a 30^{0}C por 24 h, para o enriquecimento primário. Após esse período, foi realizado o plaqueamento em superfície, nos meios Ágar Oxford (OXA) e Ágar PALCAM, que foram incubados em microanaerobiose a 35^{0}C por 24-48h. As colônias suspeitas foram submetidas a testes bioquímicos (SILVA *et al.,* 2010).

Após o período de incubação do enriquecimento primário, foi realizado o enriquecimento secundário, transferindo 1 ml do mesmo, para o caldo Fraser, que foi incubado a 30ºC por 24-48h e posteriormente, repicado para o OXA e PALCAM; na sequência, realizaram-se as provas bioquímicas.

A Identificação bioquímica das colônias suspeitas de *Listeria monocytogenes* foi feita a partir do crescimento em Caldo Triptosado, 37ºC/24h. Os testes bioquímicos usados foram:

a) Teste de catalase. b) Teste de Motilidade. c) Reação de Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI). d) Teste de verificação de hemólise. e) Teste de CAMP. f) Teste de fermentação da xilose, raminose, manitol, glicose.

A metodologia da biologia molecular tradicional (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) foi realizada em duas etapas: extração e identificação, conforme proposto por Bansal (1996) e Nayak *et al.,* (2015).

Foram coletadas amostras de 1 ml de leite integral contaminado com *Listeria monocytogenes* para a extração de material genético, bem como de todos os controles positivos e negativos.

Todas as amostras e controles foram processadas e os materiais genéticos extraídos pelo *Purelink Genomic DNA kit* (Invitrogen) de acordo com as instruções do fabricante. As amostras de DNA foram quantificadas no Nanodrop ND2000 (Thermo Scientific) e estocadas a -20ºC.

Para o PCR convencional e escolha dos iniciadores, as amplificações foram realizadas, utilizando um kit comercial (GoTaq®Green Master Mix ou DreamTaq PCR Master Mix) contendo 2 corantes (azul e amarelo) que permitem monitorar o progresso das amostras e controles durante a eletroforese. Cada 12,5 ml do “mix” contém 1 unidade de Taq DNA polimerase em 10mM Tris-HCl, pH 8.5; 50mM KCl; 1.5 mM MgCl2 e 200 mM de cada um dos desoxinucleotídeos trifosfatados (dATP, dGTP, dCTP, dTTP). Cada reação foi realizada adicionando-se 5µl do DNA alvo e 50 pmol de cada marcador molecular em um volume final de 25µl. A detecção do DNA específico de *Listeria monocytogenes* foi realizada pela PCR tradicional com a utilização do par de iniciadores LF (CAA ACG TTA ACA ACG CAG TA) e LR (TCC AGA GTG ATC GAT GTT AA), desenhados a partir da sequência do gene da Listeriolisina O, que amplificam uma seqüência de 750 pares de bases (BANSAL, 1996). As amplificações foram realizadas utilizando um termociclador ABI StepOne Real Time PCR System (Applied Biosystems) e consistem em um ciclo inicial de desnaturação de 2 minutos a 95°C e uma segunda etapa com 35 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos; anelamento a 60°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos. Após estas etapas, o processo é finalizado por um ciclo final de extensão de 10 minutos a 72º C.

Foram adotadas medidas de controle em todas as etapas da reação. Para cada conjunto de reações, foram adicionados dois controles negativos, um contendo apenas água destilada e outro com DNA extraído de amostra sabidamente negativa para *L. monocytogenes*; e um controle positivo, extraído a partir de cultura.

Para a eletroforese em gel de agarose, os produtos amplificados foram analisados em gel de agarose a 2% em TBE (0,045M de Tris-Borato; 0,001M EDTA) com 0,05 µl/ml de brometo de etídio e separados por um sistema de eletroforese horizontal numa cuba contendo o mesmo tampão. Os géis foram visualizados, e as imagens adquiridas em um sistema de aquisição de imagens (Gel Image and Documentation (BioSystematica). O tamanho dos fragmentos foi comparado com um padrão de 100 pares de base.

Os dados obtidos foram analisados a partir do teste de independência Qui-Quadrado, para comparação se existe associação entre as respostas e o gênero dos participantes da pesquisa. Para isso, foram montadas tabelas de contingência com perguntas para avaliar se houve associação entre as respostas, por exemplo, se os métodos detectavam de maneira semelhante a presença/ausência da bactéria e também se acertavam/erravam o resultado, por meio do teste estatístico acima citado, fundamentado na comparação das frequências absolutas observadas com as frequências absolutas que se teriam no caso de independência entre as variáveis.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

É possível observar na Figura 1, o crescimento de colônias pretas sugestivas de *Listeria monocytogenes* nos meios de cultura OXA e PALCAM oriundas de amostras de leite artificialmente contaminadas com cepas padrões. Com os contaminantes presentes nos cultivos, foi possível a identificação bioquímica das colônias suspeitas de *Listeria monocytogenes* pela bacteriologia convencional.

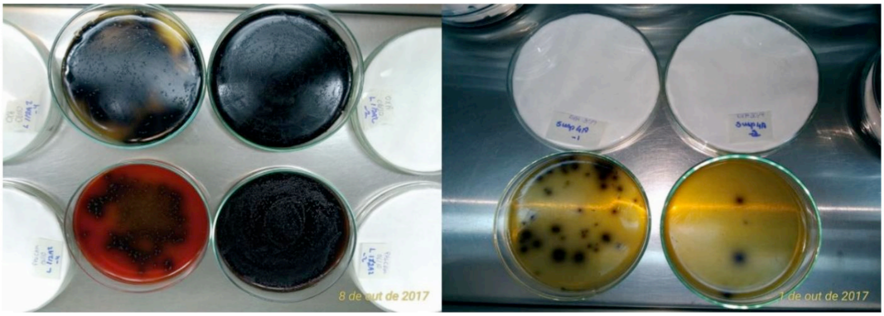


Figura 1 - Colônias pretas sugestivas de Listeria monocytogenes nos meios de cultura OXA e PALCAM oriundas de amostras de leite, artificialmente contaminadas

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Na Figura 2, observa-se os diferentes fatores de virulência detectados, utilizando a PCR convencional. Este tipo de resultado, de grande relevância na esfera da infectologia, permite avaliar no segmento de DNA pesquisado, uma sequência gênica presente

exclusivamente em um determinado ser vivo de outra espécie, seja este um vírus ou bactéria, denotando assim, a sua presença anômala.

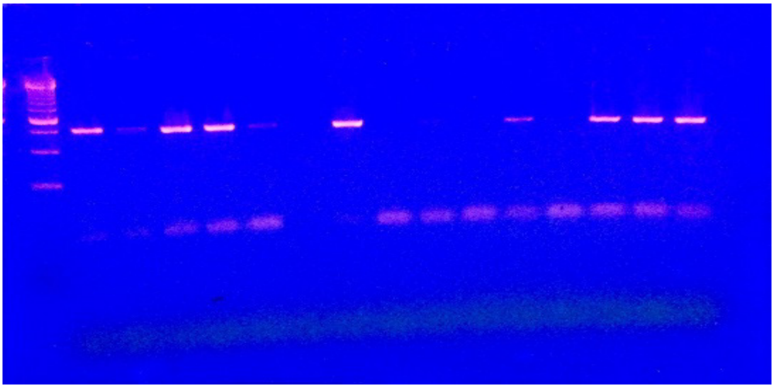


Figura 2 - Gel de agarose contendo amostras de DNA amplificado de L. monocytogenes oriundas de leite contaminado artificialmente para reação de PCR específico para Listeria monocytogenes

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

A análise comparativa entre a bacteriologia convencional (a) e biologia molecular PCR tradicional (b), pode ser observada na Figura 3. Avaliando a diferença entre os métodos (FIGURA 3a), constata-se que era esperado para bacteriologia convencional na cepa um, doze acertos, no entanto, obteve-se a ocorrência de apenas 10 acertos. A mesma observação pode ser feita para cepa 2 e 3, entre a biologia molecular (PCR) e bacteriologia convencional, respectivamente. Logo, os métodos acertaram menos do que o esperado.

O teste de hipóteses de Qui Quadrado (QQ) que se destina a encontrar um valor da dispersão para duas variáveis nominais, avaliando a associação existente entre variáveis qualitativas, obteve valor de 5,5 (Figura 3.a). Sabe-se que o valor 3,841 delimita 5% do teste. Este é o valor crítico de Qui Quadrado, que aceita a hipótese nula, não ocorrendo associação entre os grupos, ou, a hipótese alternativa, ocorrendo associação entre os grupos.

É importante ressaltar que, quando as frequências observadas são muito próximas às esperadas, o valor de QQ é pequeno, menor que 3,841. Mas, quando as divergências são grandes entre a frequência observada e esperada, consequentemente QQ assume valores altos, acima de 3,841, rejeitando a hipótese de igualdade estatística entre os números observados e esperados, ou seja, admite-se que os desvios são significativos.

Na Figura 3b e 3d, os valores de QQ foram de 0,4 e 2,2. Esses valores denotam hipótese de igualdade estatística entre os números observados e esperados, admite-se que os desvios não são significativos, não ocorrendo associação entre os grupos observados.

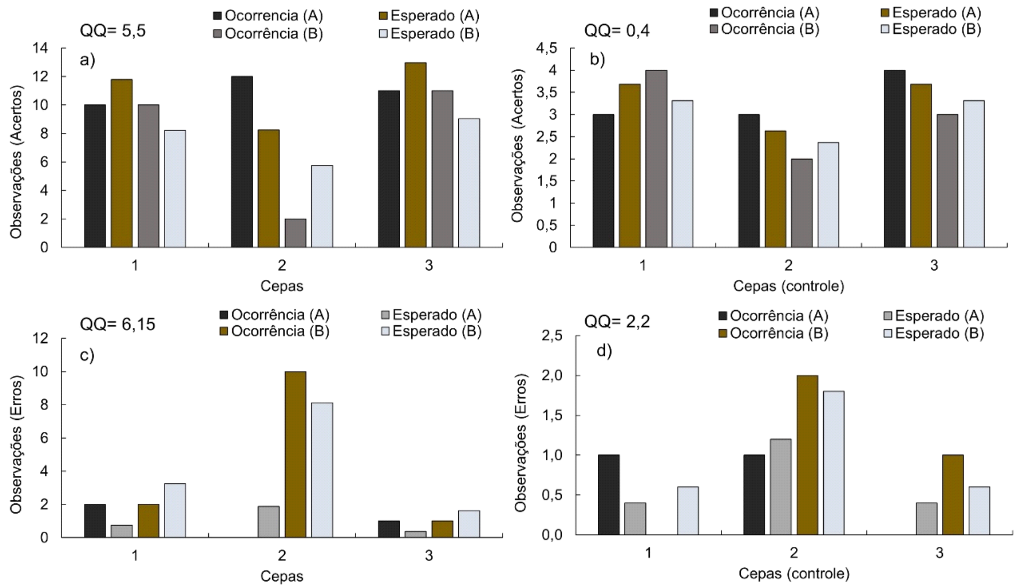


Figura 3 - Análise comparativa entre as metodologias bacteriologia convencional (A) e a Biologia Molecular PCR Tradicional (B), para ausência (acerto) e presença (erro) de Listeria monocytogenes e estimativa do Qui Quadrado (QQ), para as diferentes interações

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Para as interações entre bacteriologia convencional (A) e controle de cepas para bacteriologia convencional (CA), obteve-se menores acertos e maiores erros. Os resultados esperados eram de 32 acertos para A e 11 para CA, sendo observados 33 e 10 acertos respectivamente (FIGURA 4a). Os erros esperados para CA era de 1, observando-se 2 erros e para A, eram de 4 esperado com 2 observados. O QQ de 0,6 entre as interações denotam que não ocorre associação entre os grupos avaliados.

Entre a biologia molecular PCR (B) e controle das cepas para biologia molecular PRC (CB), foram observadas a mesma interação com menores acertos e maiores erros, no entanto, o QQ dessa interação foi de 4,2, indicando que há associação e ocorre desvios entre os grupos (FIGURA 4b).

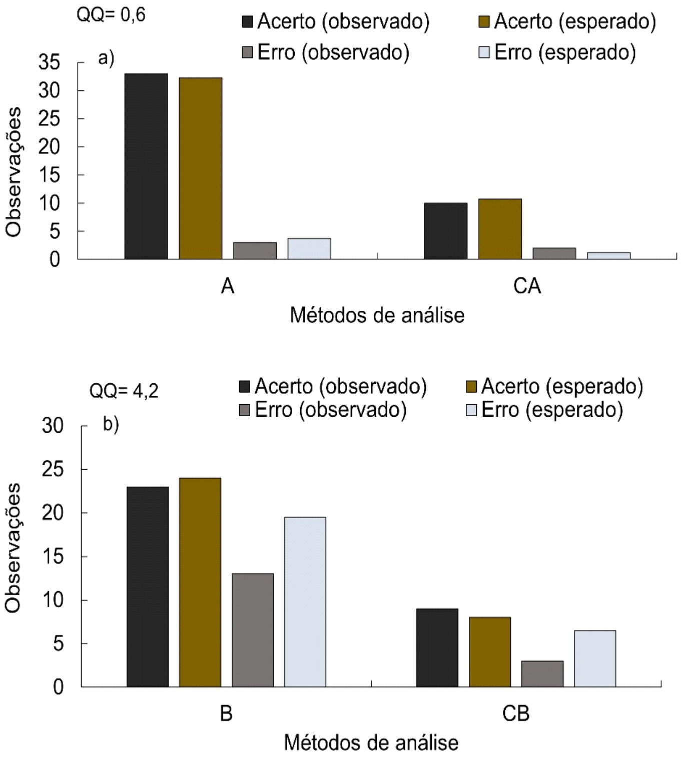


Figura 4 - Análise comparativa entre as metodologias microbiológicas convencionais (A) e controle de cepas para bacteriologia convencional (CA) (a) e biologia molecular PCR (B) e controle das cepas para biologia molecular PRC (CB) (b), para ausência (acerto) e p presença (erro) de *Listeria monocytogenes* e estimativa do Qui Quadrado (QQ), para as diferentes interações.

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Nas análises comparativas entre todos os métodos, observou-se que ocorreu associação entre os grupos, existindo diferenças significativas entre as frequências, e por conseguinte, desvios significativos entre elas, com QQ de 8,3. Houve três erros para A e eram esperados 8, assim como para o controle, o número observado foi menor que o esperado (FIGURA 5a).

Para B, o número observado também foi menor que o esperado. No entanto, o método controle apresentou o observado igual ao esperado (FIGURA 5).

Entre as análises comparativas de A com B, ocorreram divergências entre as frequências esperadas e observadas, com QQ de 8,03 (FIGURA 5b). Logo, ocorre associação entre os grupos de microbiologia convencional e molecular (PCR). Ao se comparar tanto A como B, observa-se que os dois acertam mais que o esperado, contudo, B errou mais que A.

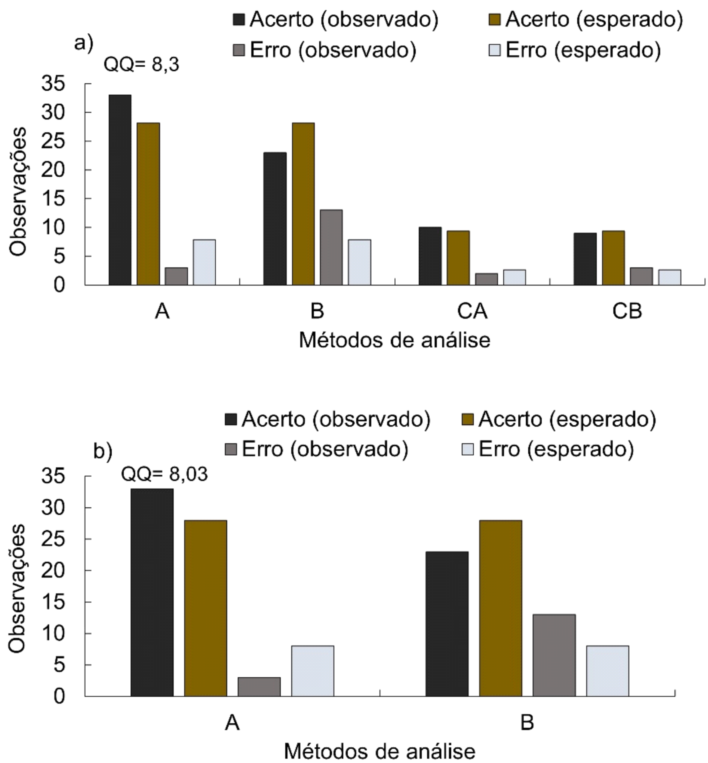


Figura 5 -Análise comparativa entre as metodologias microbiológicas convencionais (A), biologia molecular PCR (B), controle de cepas para bacteriologia convencional (CA) e controle das cepas para biologia molecular PCR (b) (a). Análise comparativa entre as metod metodologias microbiológicas convencionais (A), biologia molecular PCR (B) (b), para ausência (acerto) e presença (erro) de Listeria monocytogenes e estimativa do Qui Quadrado (QQ), para as diferentes interações.

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

A literatura mostra que estudos comparando métodos convencionais e de PCR com métodos bacteriológicos padrão, nem sempre foram concordantes (ALMEIDA *et al.,* 2013). Relatando que a PCR apresenta uma sensibilidade igual ou maior que métodos de culturas tradicionais.

Peres *et al.* (2010) avaliaram a técnica de PCR como opção para reduzir o tempo de detecção de *L. monocytogenes* no leite, comparando os resultados da reação de PCR com os da cultura da amostra empregando-se a metodologia padronizada tradicional. A técnica de PCR não foi eficiente para a detecção de *L. monocytogenes* diretamente do caldo de enriquecimento listeria (LEB). Entretanto, foi eficiente para a identificação da bactéria a partir das colônias suspeitas em meio seletivo (Oxford e Palcam), possibilitando sua identificação definitiva em apenas algumas horas.

Peres *et al.,* (2010) não detectaram *L. monocytogenes* pela reação de PCR quando realizada a partir do caldo LEB após 24 horas de incubação oriunda de amostras de leite cru integral ou leite desnatado pasteurizado. No entanto, após 48 horas de enriquecimento no mesmo caldo, foi possível identificar a bactéria por PCR nas amostras oriundas de leite desnatado, mas não naquelas provenientes de amostras de leite cru integral. Os melhores resultados obtidos por Peres *et al.,* (2010) foram quando a reação foi realizada com material obtido diretamente da colônia suspeita em meio sólido, indicando que é possível substituir os testes fenotípicos de identificação de *L. monocytogenes* pela técnica de PCR, reduzindo-se então, o tempo de identificação da bactéria.

Gonçalves et al., (2014), avaliando o limite de detecção da técnica de PCR para *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp verificaram que a técnica de PCR mostrou possuir uma boa sensibilidade para a detecção de *Salmonella* spp *e L. monocytogenes*.

Shalaby *et al.,* (2011) estudaram 66 amostras clínicas e 100 amostras de alimentos, comparando o método microbiológico convencional de diagnóstico com a PCR para detecção de *L. monocytogenes*. Verificaram que um total de 7,6% dos isolados de *L. monocytogenes* foram identificados, tanto pelo método convencional e PCR, em diferentes amostras clínicas. No entanto, a PCR identificou 6% de *L. monocytogenes* isoladas de produtos alimentares e apenas 4% dos isolados foram identificados pelo método convencional, concluindo que a PCR é um procedimento rápido, com alta sensibilidade e especificidade, para a detecção e identificação de *L. monocytogenes* a partir de amostras clínicas e de alimentos.

Nas análises dos leites UAT comerciais, observou-se que para as técnicas de Bacteriologia convencional, PCR tradicional e PCR em tempo real, que os três métodos foram eficientes, nas análises dos controles positivos e negativos (TABELA 1).

	Bacteriologia Convencional			PCR Tradicional			PCR RealTime		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Controle Negativo	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle Positivo Cepa 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle Positivo Cepa 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle Positivo Cepa 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabela 1 - Análise e comparação entre as metodologias microbiológicas convencionais, biologia molecular PCR tradicional e biologia molecular PCR *RealTime*.

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Nas análises dos leites UATs comerciais, observou-se que nos *pools* das 10 amostras, não houve detecção da bactéria *Listeria monocytogenes* na técnica de Bacteriologia convencional e PCR tradicional. Já na técnica de PCR em tempo real, o micro-organismo foi detectado em uma das 10 amostras analisadas (TABELA 2).

	Bacteriologia Convencional			PCR Tradicional			PCR RealTime		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Pool Amostra 1 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 1 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 1 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 2 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 2 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 2 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 3 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 3 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 3 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 4 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 4 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 4 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 5 - 1	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Pool Amostra 5 - 2	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Pool Amostra 5 - 3	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Pool Amostra 6 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 6 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 6 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 7 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 7 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 7 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 8 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 8 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 8 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 9 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 9 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 9 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 10 - 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 10 - 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pool Amostra 10 - 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 2 - Análise e comparação entre as metodologias microbiológicas convencionais, biologia molecular PCR tradicional e biologia molecular PCR *RealTime*. Mostra que somente na biologia molecular PCR *RealTime*, houve a detecção do micro-organismo, *Listeria monocytogenes*, nas amostras analisadas.

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Analisando as metodologias utilizadas, observou-se que, tanto nas técnicas bacteriologia convencional quanto na biologia molecular PCR tradicional, não houve

detecção do micro-organismo. Já na técnica de biologia molecular PCR *Real Time*, ocorreu a detecção de *Listeria monocytogenes* em uma das marcas analisadas. Nas análises dos controles positivos e negativos, observou-se que houve acerto de 100% nos três métodos utilizados na pesquisa.

A literatura mostra que, estudos comparando métodos convencionais e de PCR com métodos bacteriológicos padrão, nem sempre foram concordantes (ALMEIDA *et al.,* 2013). Relatando que a PCR apresenta uma sensibilidade igual ou maior que métodos de culturas tradicionais.

Peres *et al.,* (2010), avaliaram a técnica de PCR como opção para reduzir o tempo de detecção de *L. monocytogenes* no leite, comparando os resultados da reação de PCR com os da cultura da amostra, empregando-se metodologia padronizada tradicional. A técnica de PCR não foi eficiente para a detecção de *L. monocytogenes* diretamente do caldo de enriquecimento *listeria* (LEB). Entretanto, foi eficiente para a identificação da bactéria suspeita em meio seletivo (Oxford e Palcam), possibilitando sua identificação definitiva em apenas algumas horas.

Peres *et al.,* (2010) não detectaram *L. monocytogenes* pela reação de PCR quando realizada a partir do caldo LEB após 24 horas de incubação, em amostras de leite cru integral ou leite desnatado pasteurizado. No entanto, após 48 horas de enriquecimento no mesmo caldo, foi possível identificar a bactéria por PCR nas amostras de leite desnatado, mas não nas amostras de leite cru integral. Os melhores resultados obtidos por Peres et al. (2010) foram quando a reação foi realizada com material obtido diretamente da colônia suspeita em meio sólido, indicando que é possível substituir os testes fenotípicos de identificação de *L. monocytogenes* pela técnica de PCR reduzindo-se o tempo de identificação da bactéria.

Gonçalves *et al.,* (2014), avaliando o limite de detecção da técnica de PCR, para *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp, demonstraram que a técnica de PCR mostrou possuir uma boa sensibilidade para a detecção de *Salmonella* spp *e L. monocytogenes*.

Shalaby *et al.,* (2011) estudaram 66 amostras clínicas e 100 amostras de alimentos, comparando o método microbiológico convencional de diagnóstico com a PCR para detecção de *L. monocytogenes*. Verificaram que um total de 7,6% dos isolados de *L. monocytogenes* foram identificados tanto pelo método convencional e PCR, em diferentes amostras clínicas. No entanto, a PCR identificou 6% de *L. monocytogenes* isoladas de produtos alimentares e apenas 4% dos isolados foram identificados pelo método convencional, concluindo que a PCR é um procedimento rápido, com alta sensibilidade e especificidade, para a detecção e identificação de *L. monocytogenes* a partir de amostras clínicas e de alimentos.

4 I CONCLUSÃO

Após a realização e finalização do primeiro experimento, observou-se que apesar da obtenção de resultados mais rápidos, a Biologia Molecular tradicional, acerta menos

que a Bacteriologia Convencional, comprovando que a Bacteriologia Convencional ainda é a metodologia mais assertiva para a pesquisa de *Listeria monocytogenes* em alimentos.

No segundo experimento, observou-se que apesar das três técnicas acertarem 100% das análises controle, quando a pesquisa foi realizada em amostras oriundas de leite UAT com microbiota natural, somente a metodologia da Biologia Molecular PCR *Real Time* conseguiu detectar a presença do micro-organismo pesquisado em uma das amostras analisadas.

Os resultados obtidos, mostram a necessidade de pesquisas futuras para que novas técnicas de PCR sejam testadas e aprimoradas para análise de *Listeria monocytogenes* em alimentos.

Resultados mais rápidos em relação a Bacteriologia Convencional são observados nos métodos fundamentados em PCR.

Com a detecção do DNA do micro-organismo pesquisado se faz necessária a bacteriologia convencional, pois a PCR detecta DNA, mas não distingue se a bactéria está viável ou não.

O PCR Real Time mostrou-se mais sensível e rápido para a detecção do micro-organismo em relação ao PCR tradicional.

A biologia molecular PCR *Real Time* se torna interessante para a indústria de alimentos, tanto para a liberação de lotes quanto para a avaliação de higienização em linha de produção.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C. et al. Detection of *Salmonella* entérica serovar Enteritidis using real time PCR, immuno capture assay, PNA FISH and standard culture methods in different types of food samples. **International Journal of FoodMicrobiology**, Braga, v. 161, n. 1, p. 16-22, 2013. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23246608. Acesso em: 09 ago. 2019.

AMSON, G. V. et al. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná - Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciencê. Agrotec.**, v.30, n.6, p.1139-1145, 2006.

ANDRADE, R; GEMELLI, T; ONDER, L. P. D. et al. Métodos diagnósticos para os patógenos alimentares: Campylobacter sp., Salmonella sp. e Listeria monocytogenes. **Arquivos do Instituto Biológico,** São Paulo, v.77, n.4, p.741-750, out./dez., 2010. Disponível em: *www.biologico.sp.gov.br › uploads › docs › arq › v77_4 › andrade. Acesso em: 09 ago. 2019.*

BANSAL, N. S. Development of a polymerase chain reaction assay for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods. **Lett Appl Microbiol.** Australia, v.22, n. 5, p. 353–356, 1996. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8672273. Acesso em: 04 ago. 2019.

BRASIL. DOC SAC/CGAL nº 04: Escopo da Área de Microbiologia em Alimentos e Água - Revisão 10. Brasília: Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento, 2016.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

GONÇALVES, J. S.; CHEIRUBIM, A. P.; BRITO, K. C. T. de et al. Detecção de *Salmonella* spp e *Listeria monocytogenes* através de técnica de PCR. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** Umuarama, v. 17, n. 4, p. 223-226, out./dez. 2014.

JANZTEN, M. M. et al. Review. Specific detection of Listeria monocytogenes in foods using commercial methods: from chromogenic media to real-time PCR. **Spanish Journal of Agricultural Research**, [S.l.], v. 4, n. 3, p. 235- 237, 2006. Disponível em: http://revistas.inia.es/index.php/sjar/article/view/198. Acesso em: 04 ago. 2019. doi:http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2006043-198.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J; GOLDEN, D. **Modern Food Microbiology**. 7. ed. New York: Springer, p. 854, 2005.

KIM D.; CHON J.; KIM H. et al. Comparison of culture, conventional and real-time PCR methods for Listeria monocytogenes in foods. **Korean Society for Food Science of Animal Recources**, Korea, v. 34, n. 5, p. 665-673, 2014. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26761501. Acesso em: 20 ago. 2019.Epub 2014 Oct 31.

LINNAN, M. J; MASCOLA, L.; LOU, X. D. et al. Epidemic Listeriosis Associated with Mexican-Style Cheese. **N Engl J Med**, v. 319, n. 13, p. 823–828, 1988.

NAYAK, D.N., SAVALIA, C. V., KALYANI I.H. et al. Isolation, identification, and characterization of Listeria spp. from various animal origin foods. **Vet World.** v. 8, n. 6, p. 695–701, Jun, 2015. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27065632. Acesso em: 4 Ago. 2019.

PERES, N. D. LANGE, C. C.; BRITO, M. A. V. P.; et al. Detecção de Listeria monocytogenes pela técnica de PCR em leite contaminado artificialmente. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte , v. 62, n. 4, p. 973-979, Ago 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352010000400029&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 05 Ago. 2019.

SHALABY, M. A; MOHAMED, M. S; MANSOUR, M. A, et al. Comparison of polymerase chain reaction and conventional methods for diagnosis of listeria monocytogenes isolated from different clinical specimens and food stuffs. **Clin. Lab**. Egito, v. 57, n. 11/12, p.. 919-924, 2011. Disponivel em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22239022. Acesso em:

SILVA, N. D.; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F. A et al. *Listeria monocytogenes*. *In*: ______. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. cap. 18, p. 261-287.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ADAPTATIVA DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRÁGICA AO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 12/02/2021

Michelle Carlota Gonçalves
Doutoranda em Microbiologia Agrícola
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Biologia
Lavras –MG
http://lattes.cnpq.br/0340389194015034

Juliana Junqueira Pinelli
Doutoranda em Microbiologia Agrícola
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Biologia
Lavras –MG
http://lattes.cnpq.br/2491835385238289

Tenille Ribeiro de Souza
Pós doutoranda em ciências agrárias - Instituto Federal Goiano – Agronomia
Rio Verde- GO
http://lattes.cnpq.br/4144514561620320

Jorge Pamplona Pagnossa
Doutor em Microbiologia Agrícola
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Biologia
Lavras – MG
http://lattes.cnpq.br/8511743401742809

Mônica Aparecida da Silva
Graduanda em Nutrição
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Nutrição
Lavras –MG
http://lattes.cnpq.br/4038990559706274

Anderson Henrique Venâncio
Mestrando em Ciências dos Alimentos
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Ciência dos Alimentos
Lavras –MG
http://lattes.cnpq.br/5431666542288675

Clara Mariana Gonçalves Lima
Doutoranda em Ciência de Alimentos,
Faculdade de Engenharia de Alimentos,
Universidade Estadual de Campinas
Campinas-SP
http://lattes.cnpq.br/9611210818825488

Bruna Azevedo Balduino
Mestrando em Ciências dos Alimentos
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Ciência dos Alimentos
Lavras –MG
http://lattes.cnpq.br/6243525159902562

Nelma Ferreira de Paula Vicente
Doutoranda em Plantas Medicinais
Universidade Federal de Lavras
Departamento de Agricultura Lavras –MG
http://lattes.cnpq.br/4057985752747853

Roberta Hilsdorf Piccoli
Professora Titular – Universidade Federal de Lavras – Departamento de Ciências dos Alimentos Lavras –MG
http://lattes.cnpq.br/8312936087083170

RESUMO: O objetivo do trabalho foi verificar a capacidade adaptativa de EHEC O157:H7 ao óleo essencial de óregano. Inicialmente, a Concentração Mínima Bactericida (CMB) do óleo foi determinada e posteriormente, as células de

EHEC foram expostas a concentrações subletais do óleo (CMB/4 e CMB/8). Adiante, testadas frente a diferentes concentrações do óleo essencial (CMB/2 até 2CMB). Estas foram incubadas e plaqueadas em TSA (Ágar Triptona de Soja) empregando a técnica de microgotas. As células de EHEC foram classificadas como capazes de se adaptarem por crescerem em placas após cultivo em presença do óleo em concentração igual ou maior que a CMB do óleo (0,5% (v/v)). As células de EHEC apresentaram a capacidade adaptativa por crescerem em concentrações de até duas vezes o valor de CMB (1,0%), após expostas a CMB/8. Os resultados demonstram a necessidade de utilização adequada da concentração do óleo essencial de orégano (0,5%), a fim de evitar a adaptação.
PALAVRAS-CHAVE: Patógeno alimentar, plantas condimentares, segurança alimentar.

EVALUATION OF THE ADAPTIVE CAPACITY OF ESCHERICHIA COLI ENTEROHEMORRÁGICA TO THE ESSENTIAL OIL OF OREGAN

ABSTRACT: The work aimed to verify the adaptive capacity of EHEC O157: H7 to oregano essential oil. Initially, the Minimum Bactericidal Concentration (CMB) of the oil was determined and later, the EHEC cells were exposed to subletal concentrations of the oil (CMB/4 and CMB/8). Ahead, tested against different concentrations of essential oil (CMB/2 to 2CMB). These were incubated and plated on TSA (Soy Tripton Agar) using the microdroplet technique. EHEC cells were classified as capable of adapting by growing in plates after cultivation in the presence of oil in a concentration equal to or greater than the oil's CMB (0.5% (v/v)). The EHEC cells showed the adaptive capacity for growing in concentrations up to twice the value of CMB (1.0%), after being exposed to CMB/8. The results demonstrate the need for an adequate use of oregano essential oil concentration (0, 5%) in order to avoid adaptation.
KEYWORDS: Food pathogen, condiment plants, food security.

1 | INTRODUÇÃO

Escherichia coli é uma bactéria Gram-negativa da família Enterobacteriaceae, anaeróbia facultativa pertencente a microbiota comensal intestinal normal da maior parte dos animais e seres humanos. Apresenta-se na forma de bacilo Gram-negativo e possuem de 1,1 a 1,5 x 2,0 a 6 μm, possuem motilidade com flagelos peritríquios e capacidade de fermentar a glicose com formação de ácido e gás (HOLT, 1994).

Embora seja considerada não patogênica, são conhecidos seis sorotipos que apresentam patogenicidade em diferentes graus. Dentre eles, a *Escherichia coli* Enteroemorrágica (EHEC), destaca-se por causar um sério dano renal que resulta em Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), caracterizada por anemia hemolítica, trombocitopenia e falência renal aguda que pode ser fatal (KAPER, et al., 2004).

A segurança alimentar relacionada à saúde pública tem sido considerada problema crítico e esta área tem recebido atenção crescente nos últimos anos. Infecção alimentar causada por *E.coli,* em especial por EHEC é um problema emergente em indústrias alimentícias, devido ao desenvolvimento progressivo da adaptação microbiana aos

sanitizantes e conservantes utilizados. E essa capacidade das células se adptarem ás condições ambientais inóspitas envolvem respostas fisiológicas ao estresse relacionadas ás estratégias de sobrevivência e crescimento (ALIZADE et al., 2014).

O orégano (*Origanum vulgare*) é uma planta aromática amplamente utilizada como condimento na culinária e dessa é extraído o óleo essencial. O uso de óleos essenciais tem sido sugerido como uma maneira de reduzir esses mecanismos de adaptação bacteriana devido à complexidade desses óleos, o que garante que eles atuem em vários alvos nas células microbianas, porque os óleos essenciais podem alterar a permeabilidade das células microbianas, danificar membranas citoplasmáticas, alteram as proteínas da membrana, interferem no sistema de geração de energia (trifosfato de adenosina (ATP) e interrompem a homeostase celular, resultando em morte (NAZZARRO et al. 2013).

Ao considerar a elevada atividade antibacteriana dos óleos essenciais, faz-se necessário verificar a capacidade de adaptação bacteriana á esses antimicrobianos naturais quando exposta á doses subletais dos mesmos a fim de garantir a segurança alimentar nas indústrias produtoras de alimentos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de adaptação de *Escherichia coli* Enteroemorrágica (O157:H7-INCQS:00171) frente ao componente óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*), utilizado como antibacteriano.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, localizado no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

2.2 Óleo essencial

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) foi extraído *in situ* no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), conforme metodologia descrita por Souza et al. (2016). Sua composição é mostrada na Tabela 1.

Óleo essencial	Componentes majoritários	Concentração (%)
Orégano	Carvacrol	73.11
	E-Cariofileno	4.32
	y-Terpineno	3.93
	Timol	2.97

Tabela 1. Composição do óleo essencial de orégano.

Fonte: Souza et al. (2016)

2.3 Microrganismo padrão, padronização e preparo do inóculo

Foi utilizada a cepa de *Escherichia coli* Enteroemorrágica (EHEC) O157:H7-INCQS:00171, cedida pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) - RJ. A cultura estoque foi armazenada em meio de congelamento (glicerol - 15 mL; peptona bacteriológica - 0,5 g; extrato de levedura - 0,3 g; NaCl - 0,5 g; água destilada 100 mL, pH 7,0). O inóculo foi reativado inoculando-se alíquota de 100 μL da cultura estoque em tubo contendo 10 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubado a 37 ºC/ 24h. A padronização do inóculo foi realizada mediante curva de crescimento. Após a reativação, alíquota de 50 μL do inóculo foi transferida para 300 mL de caldo BHI e incubada a 37 °C, sendo realizadas leituras periódicas (intervalos de uma hora) em espectrofotômetro (D.O.600nm) e plaqueamento em Ágar Triptona de Soja (TSA) com incubação a 37 °C/24h. A cultura foi padronizada ao redor de 10^8 UFC mL^{-1}.

2.4 Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) do óleo essencial de orégano sobre EHEC

A concentração mínima bactericida do óleo essencial foi determinada empregando-se a técnica de microdiluição em caldo, em placa de poliestireno de 96 cavidades, de acordo com o CLSI, 2015 com adaptações. O óleo essencial foi solubilizado em caldo BHI, adicionado de Tween 80 (0,5%) e utilizado. Foram avaliadas as seguintes concentrações (%): 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125; 0,062; 0,03 e 0,015 (v/v). Alíquotas de 150 μL das soluções foram adicionadas nas cavidades e inoculados 10 μL da cultura padronizada. A microplaca foi vedada e incubada a 37 ºC/24h. Após esse período, foi realizado o plaqueamento de alíquotas da cultura em TSA e incubado a 37 °C/24h. A concentração mínima bactericida do óleo essencial foi aquela onde, após incubação, não ocorreu crescimento bacteriano em placa. O experimento ocorreu em triplicata e três repetições e foram utilizados dois controles para o composto testado; Controle negativo, contendo BHI acrescido de 0,5% de Tween 80 e óleo essencial e controle positivo, contendo BHI acrescido de 0,5% de Tween 80 e inóculo.

2.5 Adaptação de EHEC ao óleo essencial

As células de EHEC foram expostas a concentrações subletais do óleo essencial de orégano. As doses subletais foram determinadas com base na CMB e serão equivalentes a CMB/4 e CMB/8 (LUNDÉN et al., 2003; SANTOS et al., 2018). Em tubos tipo Falcon contendo 36 mL de caldo BHI acrescido de 0,5% de Tween 80 foi adicionado o óleo essencial nas concentrações subletais. Após homogeneização, alíquotas de 4 mL de inóculo padronizado foi adicionado ao meio e os tubos foram incubados a 37 ºC/6h. Após esse período as culturas foram centrifugadas a 5000 xg/5 min e as células recuperadas foram lavadas 3x com solução salina e utilizadas.

2.6 Avaliação da Adaptação de EHEC ao óleo essencial

A avaliação da adaptação foi realizada conforme descrito por Lundén et al., (2003) e por Santos et al., (2018). As células expostas ás concentrações subletais do antimicrobiano foram ressuspendidas em caldo BHI e a cultura foi padronizada em 10^8 UFC/mL para posterior exposição ás diferentes concentrações do óleo essencial (CMB/2; CMB; 1,2CMB; 1,4CMB; 1,6CMB; 1,8CMB e 2CMB) ao qual a cultura foi previamente exposta. O ensaio foi realizado em microplacas. As microplacas foram incubadas a 37 ºC/24h. Após esse período, alíquotas de 10 µL foram retiradas dos poços e plaqueadas em TSA pelo método de microgotas e encubadas a 37 ºC/24h.

As células de EHEC foram classificadas como capazes de se adaptarem quando essas cresceram em placas após cultivo em presença do componente em concentrações iguais ou maiores que a CMB. Paralelamente, o mesmo procedimento foi realizado com células de EHEC não expostas a doses subletais, possibilitando a comparação entre células expostas e não expostas quanto a susceptibilidade ao óleo essencial.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação da concentração mínima bactericida (CMB) do óleo essencial de orégano sobre EHEC

O resultado da determinação da concentração mínima bactericida do óleo essencial de orégano sobre EHEC O157:H7-INCQS:00171 está indicado através da Tabela 2.

	% Óleo essencial de orégano (v/v)							
Microrganismo	2	1	0,5	0,25	0,125	0,062	0,03	0,015
EHEC	-	-	-	+	+	+	+	+

Legenda: (+) Presença de crescimento; (-) Ausência de crescimento.

Tabela 2: Concentrações de inibição do óleo essencial de orégano para EHEC.

O resultado da concentração mínima bactericida apresentado na Tabela 2 demonstra a eficiência do óleo essencial de orégano sobre EHEC O157:H7-INCQS:00171, visto que este apresentou uma baixa CMB (0,5%). Estudos relatam que o óleo essencial de orégano é conhecido pela sua atividade antibacteriana em células planctônicas (Burt, 2004; Oussalah et al., 2007; Bakkali et al., 2008) e esta atividade é responsável por lesionar a membrana plasmática bacteriana, impossibilitando a divisão celular e desidratando as células (ARAÚJO; LONGO, 2016).

Portanto, é uma excelente opção para ser utilizado como conservante alimentar.

3.2 Avaliação da Adaptação de EHEC ao óleo essencial

Os resultados da avaliação da adaptação de EHEC O157:H7-INCQS:00171 ao óleo essencial estão expressos na Tabela 3.

Concentração	Dose subletal ¼	Dose subletal 1/8	Controle
0,5CMB	+	+	+
CMB	-	+	-
1,2CMB	-	+	-
1,4CMB	-	+	-
1,6CMB	-	+	-
1,8CMB	-	+	-
2CMB	-	+	-

Legenda: (CMB = 0,5%) Concentração Mínima Bactericida; (+) Presença de crescimento; (-) Ausência de crescimento.

Tabela 3: Avaliação da adaptação de EHEC ao óleo essencial.

A avaliação da adaptação foi realizada pela adição de ¼ e 1/8 da concentração de óleo essencial de orégano obtida no teste de CMB das células de EHEC, sendo estas 0,25 e 0,125 (%). A estirpe EHEC foi considerada capaz de se adaptar ao óleo essencial por crescer em concentrações de até duas vezes o valor da CMB após exposta a concentração subletal (1/8) do óleo. Já as células não expostas ás concentrações subletais (controle), não foram capazes de crescer em concentrações variando de CMB a 2CMB, crescendo apenas em 0,5 CMB.

A busca por antimicrobianos alimentares naturais e seguros têm se intensificado. A adaptação bacteriana a estes agentes pode causar um impacto significante sobre a saúde humana, bem como drásticas consequências econômicas (CHAPMAN, 2003). Este fenômeno pode ocorrer em ambiente industrial com relativa facilidade devido a prática habitual de diluição de agentes e sanitizantes para fins de maior rendimento econômico, portanto, a capacidade adaptativa de EHEC ao antimicrobiano utilizado, torna-se um fato preocupante uma vez que cepas com maior tolerância a agentes estressantes poderão sobreviver nos alimentos ou superfície de processamento, acarretando no aumento de surtos de toxinfecções alimentares.

O óleo essencial de orégano mostrou-se eficaz contra EHEC, contudo, seu uso correto se faz necessário a fim de prevenir a adaptação da bactéria a este agente.

4 I CONCLUSÕES

EHEC apresentou capacidade adaptativa quando exposta à dose subletal (1/8) do óleo essencial de orégano, por crescer em concentrações de até duas vezes (1%) o valor da concentração mínima bactericida do óleo essencial (0,5%), concentração que anteriormente era considerada bactericida. Portanto, deve-se respeitar as doses corretas de uso do antimicrobiano.

AGRADECIMENTOS

UFLA, CAPES, CNPQ e FAPEMIG.

REFERÊNCIAS

ALIZADE, H.; GHANBARPOUR, R.; AFLATOONIAN, M. R. Molecular study on diarrheagenic Escherichia coli pathotypes isolated from under 5 years old children in southeast of Iran. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v.4, n.1, p.813-817, 2014.

ARAUJO, M. M. D.; Longo, P. L. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de Origanum vulgare (orégano) diante das cepas de Escherichia coli e Staphylococcus aureus. **Arquivos do Instituto Biológico [online]**, v. 83, e0702014, 2016.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.1, p.446-475, 2008.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.94, n.3, p. 223-253, 2004.

CHAPMAN, J. S. Desinfectant resistence mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Barking, v.51, p.271-276, 2003.

CLSI. Methods for Diluition Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Tenth Edition. **CLSI document MO7-A10**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

HOLT, J. G. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 787 p. 1994.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBBLEY, H. L. T. Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews**, London, v.2, n.1, p.123-140, 2004.

LUNDÉN, J. M.; AUTIO, T.; MARKKULA, A.; HELLSTROM, S.; KORKEALA, H. Adaptive and cross-adaptive responses of persistent and non-persistent Listeria monocytogenes strains to disinfectants. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.82, n.3, p.265-272, 2003.

NAZZARRO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, Avellino, v.6, n.12, p.1451-1474, 2013.

OUSSALAH, M., CAILLET, S., SAUCIER, L., LACROIX, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. **Food Control**, v.18, n.1, p. 414–420, 2007.

SANTOS, J. M., GONÇALVES, M. C., MARTINS, H. A., PINELLI, J. J., ISIDORO, S. R., & PICCOLI, R. H. Homologous and Heterologous Adaptation of Listeria spp. to Essential Oils of Condiment Plants. **Advances in Microbiology**, v.8, n.8, p. 639-649, 2018.

SOUZA, A. A.; DIAS, N.A.A.; PICCOLI, R.H.; BERTOLUCCI, S.K.V. Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre Escherichia coli Enterotoxigênica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.18, n.1, p. 105-112, 2016.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO GESTOR NAS COMPETÊNCIAS GERENCIAIS EM UMA UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO

Data de aceite: 03/05/2021

Maria Rosa Figueiredo Nascimento
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela (PPGCTA/UFRRJ)

Alexandra Marins Hatschek
Discente do curso de pós-graduação lato sensu núcleo de pós-graduação e extensão – Faveni

Beatriz de Lopes
Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela (PPGCTA / UFRRJ)

Katia Cansanção Correa de Oliveira
Doutora em Ciências Nutricionais/Instituto de Nutrição Josué de Castro UFRJ

Vânia Madeira Policarpo
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela (PPGCTA / UFRRJ)

RESUMO: A presença de um gestor é fundamental para garantir a qualidade do serviço em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN). Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi caracterizar um gestor de UAN, bem como, suas atividades dentro desse serviço, e também identificar percepções a respeito das competências gerenciais requeridas pela empresa e as efetivas em seu trabalho enquanto gestor. Trata-se de um estudo de campo, descritivo, realizado em uma UAN de escola municipal, entre março a junho de 2018. As informações de interesse, foram obtidas por meio de observações e perguntas abertas conduzidas por uma aluna de pós-graduação. A escola atende 711 pessoas entre alunos do primeiro e segundo seguimento do ensino fundamental e funcionários. Inicialmente, na ausência de um gestor foi observado que os colaboradores executavam as suas atribuições de forma irregular, não seguiam nenhuma sequência, consequentemente, o serviço tornava-se desorganizado e cansativo. A inclusão de uma gestora na UAN, promoveu capacitação dos funcionários, implementação de procedimentos operacionais padronizados (pops) e de fichas técnicas de preparos, além de melhorar a comunicação entre a equipe, refletindo na qualidade do serviço. Com base nessas observações, concluímos que, a presença do gestor nessa UAN foi fundamental para instituir e padronizar técnica que visam obter qualidade do ponto de vista higiênico-sanitário, desde o início da produção até o produto final, assim como para melhorar a interação entre a equipe.

PALAVRAS-CHAVE: Gestão, unidade de alimentação e nutrição, motivação, conscientização.

ABSTRACT: The presence of a manager is essential to ensure the quality of care in a Food and Nutrition Units (FNU). This study aimed to characterize a manager of an FNU, as well as his activities within that service, and also to identify perceptions regarding the managerial competencies required by the company and the effective ones in his work as a manager. This is a descriptive observational study carried out in a FNU of a municipal school between March and June 2018. The information of interest was

obtained through observations and open questions conducted by a graduate student. The school serves 711 people, including students in the first and second segments of elementary school and employees. Initially, in the absence of a manager, it was observed that employees performed their assignments irregularly and didn't follow any sequence, consequently the service became disorganized and tiring. After the arrival of a manager at the FNU, there was training for employees, implementation of standardized operational procedures (SOP) and technical preparation sheets, as well as improved communication between the team, reflecting on the quality of the service. We can conclude that the presence of the manager in this FNU was fundamental to institute and standardize techniques that aim to obtain quality from a hygienic-sanitary point of view, from the beginning of production to the final product, as well as to improve the interaction between the team.
KEYWORDS: Management, food and nutrition unit, motivation, awareness.

INTRODUÇÃO

Atualmente, encontramos muitos casos de produção onde a rentabilidade dos funcionários está em nível decrescente por consequência da falta de motivação ou da falta de sincronia no ambiente de trabalho (OLIVEIRA, FERREIRA, TEIXEIRA, 2020; JUSTEN, CHILANTI, 2018). É importante citar que, o setor de serviço de alimentação não se faz de forma individual, pelo contrário, existe no contexto um setor de redes humanas, que desencadeiam as atividades dos funcionários na maioria do tempo, de forma que equipe e gerência se inter-relacionam, favorecendo a produtividade dos setores de serviço, ou seja, a motivação de funcionários numa Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) atua como um fator de melhoria no desempenho dos profissionais (SANTOS, BUCCIOLI, 2019; AVELATO, ARAUJO, 2009; BITENCOURT, 2005; TEIXEIRA, 2010).

Para obter qualidade, a UAN deve contar com um quadro de pessoal adequado tanto do ponto de vista quantitativo como qualitativo, desenvolvendo ações proativas, antecipando-se nas suas ações, prevenindo desvios comportamentais e de desempenho profissional que possam prejudicar a qualidade dos serviços e produtos (AMARAL, CARNEVALE, 2008). As UANs são formadas por um conjunto de áreas e serviços responsáveis pela produção de refeições balanceadas dentro dos padrões dietéticos e higiênicos, visando atender as necessidades nutricionais de seus comensais, adequadas aos recursos financeiros da unidade (DE BRITO, TORRES, 2015; ABREU et al., 2013).

Com o forte crescimento do setor de serviços, a grande concorrência, a presença de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) e processos devido à baixa qualidade de produtos, a qualidade de produtos e serviços passou a ser um dos objetivos a serem alcançados pelas UANs, a fim de promover a saúde de seus usuários e garantir seu lugar no mercado de alimentação (ALVAREZ, 2019; SLACK, 2018; TEIXEIRA et al., 2010). Desse modo, o êxito no funcionamento de uma UAN, depende da definição clara de seus objetivos, de sua estrutura administrativa, de suas instalações físicas e recursos humanos

e, sobretudo, da normatização de todas as operações desenvolvidas, que devem ser baseadas nos elementos do processo administrativo básico (TEIXEIRA et al., 2010).

Segundo Abreu (2013), o sucesso de uma organização é baseado nos processos pelo qual a mesma opera, podendo ser o processo administrativo o responsável. Este processo, pode ser definido como as várias funções do administrador de UAN como um todo. O planejamento, organização, direção e controle, constituem as funções administrativas. Quando visualizadas na sua abordagem total para o alcance de objetivos, tais como, a qualidade de um serviço, forma o processo administrativo. A qualidade pode ser conceituada como uma sistematização da produção de produtos e serviços com o intuito de assegurar um resultado econômico das operações, e que atendam plenamente a satisfação do consumidor, o conceito de qualidade é uma ideia antiga, porém sua gestão para obtenção é recente (ABREU et al., 2013; COLARES, FREITAS, 2005). Bravo (2010) descreve que, a gestão de qualidade facilita o processo de mudanças organizacionais envolvendo pessoas e criando processos que facilitem o alcance da mudança esperada.

O engenheiro francês Henry Fayol, é considerado um dos fundadores da administração moderna. Fayol, dedicou sua vida ao estudo dessa área, e desenvolveu a teoria da gestão ou processo administrativo, onde segundo ele, "administração é baseada em quatro princípios (planejamento, organização, direção e controle). De acordo com o autor, previsão seguida de métodos adequados de gerência torna os resultados satisfatórios inevitáveis, afirma ainda que, esses princípios são universais e podem ser aplicados a qualquer organização" (FAYOL, 1994).

Em se tratando de cargos gerenciais, estes exercem um papel de responsabilidade quanto ao sucesso organizacional, uma vez que são os articuladores das pessoas e resultados, atuando como canal de comunicação mediante a coordenação das atividades de suas unidades com as demais unidades de uma organização (SARTOR, ALVES, 2019; FREITAS, ODELIUS, 2018). Uma das áreas onde a atuação do nutricionista tem sido frequentemente requerida, é a de produção de refeições para atendimento ao trabalhador da indústria, do comércio e do setor de serviços (CFN, 2015; BOOG et al., 1988).

"Se tratando de uma cozinha, trabalha-se com pessoas e para pessoas. É importante observar suas expectativas, entender suas motivações e necessidades, e fazer com que seus anseios se transformem em uma experiência positiva" (MAXIMIANO, 2011).

"A cordialidade, o respeito, o profissionalismo e a eficiência são fatores fundamentais na relação entre gestores e equipe" (FONSECA, 2018).

Os três grandes pilares do serviço de alimentação são: primeiro, o ambiente como um todo, além dos aspectos físicos, ou seja, o ambiente gerado por todo o conjunto humano e físico; segundo , o serviço deve ser adequado ao conceito do restaurante e sua proposta de atendimento ao nicho específico de mercado; e por último, o cardápio que precisa estar em perfeita sintonia com todos os elementos componentes desse conceito e em sincronia com os anseios e expectativas do público-alvo (MANZALLI, 2010; ABREU et al., 2013).

Desse modo, para garantir a qualidade do serviço em uma UAN, é fundamental a presença de um gestor visando planejar, organizar e administrar corretamente toda operação, alcançando menor desperdício de tempo e recursos, aproveitando melhor a mão de obra, reduzindo custos e evitando problemas inerentes a saúde do trabalhador e de seus comensais (NOBREGA et al., 2012; SILVA, BRASIL, 2012). Sendo assim, pesquisas que retratam a importância do gestor dentro de UAN para garantir o controle higiênico-sanitário, do início até o final da produção são fundamentais.

Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi caracterizar um gestor de UAN, bem como, suas atividades exercidas dentro desse serviço, identificar percepções a respeito das competências gerenciais requeridas pela empresa e as efetivas em seu trabalho enquanto gestor.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo qualitativo, de metodologia exploratória, que utilizou observações e perguntas abertas, direcionadas à funcionários de uma UAN de uma escola municipal, localizada em Seropédica, Rio de Janeiro. Essa escola, conta com a parceria da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), o que à diferencia das demais do mesmo município.

Para obter as informações pertinentes ao estudo, foram realizadas visitações, observações e anotações, visando caracterizar o funcionamento da escola, o número total de funcionários e de alunos, levantamento de mudanças na cozinha, desempenho das atividades desenvolvidas na cozinha pelos funcionários antes e após a presença de um gestor nessa UAN.

As visitas ocorreram entre os meses de março a junho de 2018 nos horários de 07:00 às 14:00 horas. Adicionalmente, foram realizadas entrevistas abertas, ou seja, os participantes foram orientados a falar livremente a respeito da temática proposta, possibilitando ao pesquisador um amplo discurso acerca do tema (BONI, QUARESMA, 2005). Tanto as visitas quanto as entrevistas foram conduzidas pela pós-graduanda. Cabe ressaltar que, as observações realizadas contribuíram para complementar as informações obtidas, por meio da percepção de aspectos comportamentais (MINAYO, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto a caracterização da escola, foi constatado que é uma escola municipal, mas tem parceria com a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sendo administrada por uma diretora da universidade e uma subdiretora da prefeitura. Observou-se que a gestão e democrática, partindo da premissa de que todos são importantes, por isso devem ser ouvidos e respeitados. É um modelo de trabalho mais colaborativo, que depende do empenho conjunto para alcançar ótimos resultados. Nesse caso, o mais comum é ouvir

frases do tipo “não se gerencia pessoas, se gerencia com pessoas”. É um tipo mais equilibrado no qual todos colaboram para chegar a um denominador comum. O difícil é achar o ponto de equilíbrio ideal para o empreendimento.

A escola atende ao primeiro e segundo seguimento do ensino fundamental, sendo 350 do primeiro e 240 do segundo seguimento, 53 professores, 48 funcionários sendo que, 8 pertence a universidade e 21 a prefeitura Municipal de Seropédica, também conta com a ajuda dos terceirizados, sendo 15 pagos pela universidade e 4 pela prefeitura, totalizando 691 pessoas. Adicionalmente, há colaboração de 20 estagiários distribuídos em todos os setores da escola (**Tabela 1**).

Função	Número de pessoas
Alunos do 1º segmento	350
Alunos do 2º segmento	240
Professores	53
Outras funções	48
Estagiários	20
Total	711

Tabela 1. Caracterização da escola.

Observou se que a cozinha haviam dois funcionários da universidade, 01 cozinheiro e 01 técnico, além de 08 merendeiras do quadro da prefeitura. O horário de funcionamento da cozinha era integral (das 07:00 às 17:00 horas), sendo servido desjejum, almoço e lanche, o que diferencia essa escola das demais do mesmo município, pois é a única que atende horário integral. Durante a permanência da pós-graduanda, foi visto que não havia nenhum profissional que gerenciasse, comandasse e fiscaliza se as atividades desenvolvidas na cozinha, na qual foi observado que, os colaboradores executavam as suas atribuições de forma irregular não seguiam nenhuma sequência, consequentemente o serviço tornava se desorganizado e cansativo. Para Teixeira et al. (2010), o êxito no funcionamento de uma unidade de alimentação e nutrição, depende da definição clara de seus objetivos, de sua estrutura administrativa, de suas instalações físicas e recursos humanos e, sobretudo da normatização de todas as operações desenvolvidas, que devem ser baseadas nos elementos do processo administrativo básico, preconizado por Fayol.

Quanto a execução do cardápio, os mesmos já elaborados pela prefeitura, observou se que os colaboradores executavam de qualquer maneira, não aplicando as técnicas de pré-preparo, preparo e cocção, as Boas Práticas de Fabricação (BPFs) de acordo com a RDC 216 de 2004, não eram aplicadas tão pouco os procedimentos operacionais padronizados (POPs) (BRASIL, 2004). Segundo Paladini (2012), as estratégias de produção da qualidade iniciam-se, sem dúvida, pela introdução de processos de gestão de qualidade,

a ideia de tais estratégias é relativamente simples. Trata-se de um processo que visa induzir as pessoas a produzir qualidade em suas atividades desde o início. Para Mezomo (2014), os nutricionistas administradores do serviço de nutrição devem estabelecer sistemas de gestão com uma estruturação própria, de acordo com os objetivos preestabelecidos, a fim de alcançar tais objetivos e minimizar possíveis problemas.

Quanto ao comprimento do horário de entrada e saída dos colaboradores, foi observado alto absenteísmo, refletindo na normalidade das rotinas, culminado muitas vezes no atraso da cadeia produtiva, refletindo nos horários das refeições. Adicionalmente, todos os dias ocorriam algum incidente na cozinha, prejudicando todo o desenvolvimento da rotina. De acordo com Abreu (2013), é fundamental que todos os funcionários entendam a importância de cada atividade desenvolvida dentro de uma UAN, e suas atribuições especificas assim como seus horários, a fim de garantir uma rotina saudável e adequada tanto para o bom funcionamento do serviço, quanto para a qualidade de saúde de cada funcionário.

Desse modo, a diretora solicitou ao reitor da universidade parceira, um profissional técnico para administrar a UAN. Com a inserção do gestor ao serviço, houve mudanças significativas na cozinha. Primeiramente, o gestor realizou uma conversa informal detalhando seu plano de trabalho aos colaboradores. Adicionalmente, foram identificados equipamentos em desusos armazenados no depósito, que foram instalados na cozinha facilitando o serviço, estabelecendo uma relação de confiança entre a gestora e a equipe.

Durante o período de férias escolares, foram ministrados cursos de capacitação para os manipuladores como, técnicas de preparo dos alimentos, boas práticas de higiene e de POPs procedimentos operacionais padronizados com o objetivo de melhorar a qualificação dos profissionais promovendo melhora no funcionamento da cozinha. Após a capacitação, foram feitos os POPs e cartazes que foram colocados na cozinha. Como exemplo, os POPs da higienização das mãos, da lavagem e desinfecção dos legumes, e cartazes com informações dos horários de almoço dos funcionários da cozinha, técnicas de preparo com as fichas técnicas, introdução de algumas preparações com verduras, hortaliças e frutas no cardápio. Os POPs são ferramenta fundamentais para auxiliar a obtenção de níveis de segurança alimentar previstos na legislação (MOREIRA, DAL FABBRO, 2018; ROSA, GUELBERT, 2015).

Quantos as preparações, os colaboradores receberam instruções de como utilizar as fichas técnicas, refletindo na melhora do produto final, por exemplo, as preparações apresentaram melhor palatabilidade, aparência e textura. Com isso, houve redução de desperdícios, e melhor aceitabilidade. Adicionalmente, a higienização da cozinha feita diariamente, apresentou melhora, além da inclusão da limpeza geral realizada no final da semana. Além disso, o uso de uniforme passou a ser obrigatório. Ressaltando que, a utilização de ferramentas como as fichas técnicas, treinamentos e diálogo, são fundamentais para garantir a qualidade do serviço, a importância de cada etapa e das obrigatoriedades

dentro de uma UAN precisam ser claras de forma que o colaborador possa compreender o porquê de tal recomendação (CASTRO et al., 2013).

Também foi observado que, no planejamento dos cardápios, a carne passou a ser retirada um dia antes, sendo levada a um refrigerador para que no dia seguinte seja limpa e cortada, sendo colocada para refrigerar até o dia seguinte para ser preparada e distribuída na refeição. Também foi observado diminuição de desperdício de alimentos. Os cardápios atendiam a todos os requisitos, onde é servido como prato principal, uma proteína, uma guarnição, saladas cruas e cozidas, o complemento arroz e feijão e uma fruta. Essa oferta ocorre devido a universidade contribuir com gêneros alimentícios para merenda escolar, como também adquire itens (frutas e legumes) da agricultura familiar recurso do FNDE/ PNAE (AQUISIÇÃO DE PRODUTOS DA AGRICULTURA FAMILIAR PARA O PROGRAMA NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO ESCOLAR).

A Lei nº 11.947, de 16 de junho de 2009, determina que no mínimo 30% do valor repassado a estados, municípios e Distrito Federal pelo Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE) para o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) deve ser utilizado na compra de gêneros alimentícios diretamente da agricultura familiar e do empreendedor familiar rural ou de suas organizações, priorizando-se os assentamentos da reforma agrária, as comunidades tradicionais indígenas e as comunidades quilombolas. A aquisição dos produtos da Agricultura Familiar poderá ser realizada por meio da Chamada Pública, dispensando-se, nesse caso, o procedimento licitatório (BRASIL, 2009).

Adicionalmente, foi observado uma atitude por parte da gestora, na qual as crianças recebiam instruções sobre a importância do consumo de frutas e hortaliças diariamente. A partir dessa ação, houve melhor aceitabilidade desses alimentos pelas crianças. De acordo com Paiva et al. (2012), a presença de um gestor na UAN de uma escola é fundamental para garantir a oferta de uma alimentação equilibrada e variada, além de contribuir para práticas educativas que visam aumentar o consumo de todos os grupos de alimentos oferecidos, em especial frutas, legumes e verduras.

Com relação aos adolescentes da turma do 9º ano, foi criado um horário para ministrar atividades teóricas e práticas sobre segurança alimentar e alimentação saudável, incluindo preparo de receitas. Em si tratando de um público onde as escolhas alimentares são baseadas em doces, frituras, refrigerantes entre outros alimentos ricos em açúcares e gorduras que estão associados ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (MARRÓN-PONCE et al., 2019; LOUZADA et al., 2015), essa abordagem dentro da escola, fortalece o vínculo entre a escola e a comunidade.

Um fato que se destacou, foi a comunicação entre a gestora e os colaboradores, por exemplo, sempre que ia acontecer uma preparação nova, uma mudança na cozinha, a gestora comunicava se sempre com os colaboradores, isso só contribuiu para os colaboradores adquirirem mais confiança. Diante do exposto foi observado que os colaboradores passaram a ter mais compromisso com suas atividades, respeito uns com

os outros, todas as vezes que um colaborador fosse faltar era levado ao conhecimento da gestora. Adicionalmente, foi observada melhor interação entre a equipe, criando um ambiente de trabalho satisfatório entre eles e a gestora.

Segundo Marchiori (2017), "a comunicação serve como "... uma ponte de significados que cria compreensão mútua e confiança, já que a compreensão leva a aceitação ou não da mensagem, e uma ação para quem recebe a mensagem".

Para Furnham (2001), "as pesquisas mostram que a escolha de canal de comunicação pode afetar em muito o nível de clareza ou ambiguidade da mensagem que está sendo transmitida. O canal oral (conversas pelo telefone ou reuniões pessoais, por exemplo) são preferíveis ao canal por escrito, com anotações e memorandos, quando as mensagens forem ambíguas (e exigirem bastante assistência para serem interpretadas) ao passo que o canal por escrito é preferível quando a mensagem é clara".

CONCLUSÕES

Podemos concluir que, a presença do gestor nessa UAN foi fundamental para instituir e padronizar técnica que visam obter qualidade ponto de vista higiênico-sanitário, desde o início da produção até o produto final, assim como para melhorar a interação entre a equipe.

REFERÊNCIAS

ABREU, E. S.; SPINELLI, M. G. N.; PINTO, A. M. S. (Ed. 5). **Gestão de Unidades de Alimentação e Nutrição: Um modo de fazer**. São Paulo: Metha, 2013.

ALVAREZ, M. E. B. **Gestão de qualidade, produção e operações**. São Paulo: Atlas, (Ed. 3), 2019.

AMARAL, L. B.; CARNEVALE, R. M. S. **Redução do desperdício de alimentos na produção de refeições hospitalares**. Trabalho de Conclusão de Curso de especialização em Gestão Pública. Faculdade IBGEN - Instituto Brasileiro de Gestão De negócios, Porto Alegre, RS, 2008.

AVELATO, H.; ARAÚJO, E. M. G. **Gestão, organização e condições de trabalho**. V Congresso Nacional de Excelência em Gestão. Gestão do Conhecimento para a Sustentabilidade. 2009.

BITENCOURT, C. C. **Gestão de Competências e Aprendizagem nas Organizações**. São Leopoldo: UNISINOS, 2005.

BONI, V.; QUARESMA, S. J. Aprendendo a entrevistar: como fazer entrevistas em ciências sociais. **Revista Eletrônica dos Pós-Graduandos em Sociologia Política da UFSC**, v. 2, p. 68-80, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC no 216, de 15 de setembro de 2004. **Aprova o regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação**. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESO LU%25C3%2587%25C3%2583ORDC%2BN%2B216%2BDE%2B15%2BDE%2BSETEMBRO%2BDE%2B2004.pdf/23701496-925d-4d4d-99aa-9d479b316c4b>. Acesso em: 05 de Jan. de 2018.

BRASIL. Resolução/CD/FNDE n. 38, de 16 de julho de 2009. **Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar aos alunos da educação básica no Programa Nacional de Alimentação Escolar - PNAE. 2009**. Disponível em: <https://www.fnde.gov.br/index.php/acesso-a-informacao/institucional/legislacao/item/3341-resolu%C3%A7%C3%A3o-cd-fnde-n%C2%BA-38-de-16-de-julho-de-2009>. Acesso em: 05 de Jan. de 2018.

BRAVO, I. **Gestão da qualidade em tempos de mudança**. São Paulo: Alínea, (Ed. 3), 2010.

BOOG, M. C. F.; RODRIGUES, K. R. M.; SILVA, S. M. F. Situação profissional dos nutricionistas egressos da PUCCAMP 1. áreas de atuação, estabilidade, abandono da profissão, desemprego. **Revista de nutrição da PUCCAMP**, v. 1, p. 139-152, 1988.

CASTRO, R. S. D.; VIEITES, R. L. **Boas práticas de fabricação (BPF), análise de tomate e água em restaurantes da cidade de Botucatu - SP.** Tese. Universidade Estadual Paulista. Júlio de Mesquita Filho. São paulo: Botucatu, 2013.

CFN. Conselho federal de nutricionistas. resolução nº 380, de 9 de dezembro de 2005. **Dispõe sobre a definição das áreas de atuação do nutricionista e suas atribuições, estabelece parâmetros numéricos de referência, por área de atuação**. Brasília, DF. disponível em: < http://www.cfn.org.br/inicial/resolucao_380.pdf >. acesso em 05 jan. de 2018.

COLARES, L. G. T.; FREITAS, C. M. **Processo de trabalho, saúde e qualidade de vida no trabalho em uma unidade de alimentação e nutrição: uma abordagem qualitativa.** Tese. Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de janeiro, rj, 2005.

DE BRITO, K. M. F.; TORRES, C. C. Riscos à saúde dos trabalhadores em unidade de alimentação e nutrição de um hospital universitário. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, 2015.

FAYOL, H. administração industrial e geral. São Paulo: Atlas, 1994, p. 138.

FONSECA, M. T. **Tecnologias Gerenciais de Restaurantes.** São Paulo: SENAC, (Ed. 7). 2018.

FREITAS, P. F. P.; ODELIUS, C. C. Competências gerenciais: uma análise de classificações em estudos empíricos. **Cad. EBAPE.BR**, v. 16, 2018.

FURNHAM, A. **Linguagem corporal no trabalho**. (Tradução de Márcia da Cruz Nóboa Leme). São Paulo: Nobel, 2001.

JUSTEN, M. K.; CHILANTI, G. **Absenteísmo em uma unidade de alimentação e nutrição de grande porte em Caxias do Sul-RS**. (Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, de Bacharelado em Nutrição). Universidade de Caxias do Sul, Canela, RS, 2017.

LOUZADA, M. L. C.; et al. Consumption of ultra-processed foods and obesity in Brazilian adolescents and adults. **Prev Med**. v.81, p. 9-15, 2015.

MANZALLI, P. V. **Manual para serviços de alimentação**. São Paulo, Metha, (Ed. 2), 2010.

MARCHIORI, M. **Cultura e comunicação organizacional**. São Caetano do Sul: Difusão, (Ed. 2), 2017.

MAXIMIANO, A. C. A **Introdução à Administração**. São Paulo: Atlas, (Ed. 8), 2011.

MARRÓN-PONCE, J. A., et al. Associations between Consumption of Ultra-Processed Foods and Intake of Nutrients Related to Chronic Non-Communicable Diseases in Mexico. **J Acad Nutr Diet**. v.119, p. 1852-1865, 2019.

MEZOMO, I. B. **Os Serviços de Alimentação: Planejamento e Administração**. São Paulo: Manole, (Ed. 6), 2014.

MINAYO, M. C. S. **O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde.** São Paulo: Hucitec Abrasco, (Ed. 14), 2014. p. 393.

MOREIRA, T. R. B. M.; DAL FABBRO, A. L. **Condições sanitárias e documentação de serviços de alimentação de creches públicas e privadas**. (Dissertação). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP. 2018.

NOBREGA, A. B. N.; et al. **Competências gerenciais do nutricionista gestor de unidades de alimentação terceirizada**. RapUnP. 2012.

OLIVEIRA, S. P. F.; FERREIRA, A. M. M.; TEIXEIRA, G. M. Qualidade de vida no trabalho de manipuladores de um serviço de nutrição hospitalar em Maceió - AL. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v.50, p. e3498, 2020.

PAIVA, P. Y. U.; et al. A importância do nutricionista na qualidade de refeições escolares: estudo comparativo de cardápios de escolas particulares de ensino infantil no município de São Paulo. **Revista UNIVAP, São José dos Campos-SP**, v. 18, dez.2012.

PALADINI, Edison Pacheco. **Gestão da qualidade: teoria e prática**. São Paulo: Atlas, (Ed. 3), 2012.

ROSA, P. T.; GUELBERT, T. F. **Implantação do manual de boas práticas de manipulação em cozinha pedagógica de uma instituição de ensino na cidade de Campo Mourão – PR**. (Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, PR, 2015.

SANTOS, M.; BUCCIOLI, P. T. **Motivação e liderança em Unidades de Alimentação e Nutrição**. Revista Ciências Nutricionais Online, v.3, p.39-45, 2019.

SARTOR, J.; ALVES, M. K. Percepção do perfil de liderança do nutricionista gestor em unidades de alimentação e nutrição. **Revista Saúde e Desenvolvimento Humano**. v. 7, 2019.

SILVA, S. M. R; BRASIL, D. S. B. **Importância da utilização das ferramentas de gestão da qualidade para a produção de alimentos seguros – análise de uma unidade de alimentação e nutrição (UAN) na cidade de Belém – PA**. (Dissertação), Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias Departamento de Economia e Gestão, Lisboa, 2012.

SLACK, N. **Administração da produção**. São Paulo: Atlas, (Ed. 8), 2018.

TEIXEIRA, S. et al. **Administração aplicada a Unidades de Alimentação e Nutrição**. São Paulo: Atheneu, (Ed. 1), 2010.

CAPÍTULO 6

COALICIONES DE POLÍTICAS PÚBLICAS PARA EL DESARROLLO LOCAL: LA INNOVACIÓN SOCIAL EN LOS PROGRAMAS DE ADQUISICIÓN DE ALIMENTOS – PAA Y PNAE

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 01/02/2021

Rosinele da Silva de Oliveira
Ex-bolsista CAPES/BRASIL
Universidad de Alicante - UA
Alicante – España
http://lattes.cnpq.br/2622125115509290

José Daniel Gómez López
Universidad de Alicante - UA
Alicante – España
http://lattes.cnpq.br/7253069023321690

Mário Vasconcellos Sobrinho
Universidade da Amazônia – UNAMA
Belém-PA
http://lattes.cnpq.br/7843288526039148

RESUMEN: Brasil está en su tercera generación de políticas públicas enfocadas en la agricultura familiar. Esas generaciones coexisten actualmente y abarcan desde la estimulación del incremento de la producción hasta la innovación social que es la creación del mercado institucional vía el PAA y el PNAE. El concepto adoptado como base de esta investigación es el de la Innovación Social y la teoría que sustenta los análisis es el del Capital Social. Como métodos se adoptaron el Estudio de Caso y el Análisis de Contenido. La cohorte es el conjunto de los 144 municípios del Estado de Pará. Los resultados señalan la necesidad de emerger una cuarta generación de politicas públicas direccionadas a la agricultura familiar la cual, a su vez, tiene un carácter inmanentemente estratégico para el país y sirve de ejemplo para otros países conforme ha sido evidenciado por la Organización de las Naciones Unidas (ONU). Esta generación debe de ser capaz de crear una innovación social con una interfaz en las diversas áreas que afectan la vida en el campo para que así logre con efectividad el desarrollo local.

PALABRAS CLAVE: Política Pública, Innovación Social, Capital Social, Governança, Agricultura Familiar.

COALITIONS OF PUBLIC POLICIES FOR LOCAL DEVELOPMENT: SOCIAL INNOVATION IN THE FOOD ACQUISITION PROGRAMS – PAA AND PNAE

ABSTRACT: Brazil is through its third generation of public policies focused on family farming. Currently, these generations coexist among them and range from encouraging raising of production to social innovation, which is the creation of the institutional market via PAA and PNAE. It was adopted the concept Social Innovation as basis of this research, whereas Social Capital was analysis's theory. The Case Study and Content Analysis were adopted as research methods. The cohort is a group of 144 municipalities in the State of Pará. The results show the need to emerge a fourth generation of public policies aimed at family farming which, in turn, has an immanently strategic features for the country and is used as an example for other countries as has been evidenced by United Nations (UN). This generation must be able to generate a social innovation with an interface within the various

areas that affect daily life in the countryside and, in doing so, it can effectively achieve local development.
KEYWORDS: Public Policy, Social Innovation, Social Capital, Governance, Family Agriculture.

INTROCUCCIÓN

Existe un amplio consenso sobre que la innovación social es un fenómeno necesario para contribuir a resolver los retos sociales de carácter complejo y multidimensional que han proliferado en las últimas décadas. Sin embargo, y aunque la innovación social ha ido ganando peso, no hay un acuerdo general sobre qué es, ni se conocen a profundidad todos los factores que determinan su aparición en un territorio. No es infrecuente que dicho término se asocie directamente a la generación de nuevas tecnologías.

La innovación tecnológica ha sido utilizada recurrentemente como un medio de diferenciación para lograr una mayor competitividad empresarial, lo que ha conllevado a la consecución de grandes avances científico-técnicos. Sin embargo, esto no ha evitado que en las últimas décadas emerjan grandes retos sociales en los territorios: pobreza, exclusión, desigualdad, deterioro de las condiciones medioambientales y desempleo, entre otros. Todos estos son problemas que tienen una alta repercusión en el ámbito local, siendo éste el contexto en donde la innovación social gana más peso como fenómeno con potencial transformador (GARCÍA-FLORES y PALMAS MARTOS, 2019).

Se entiende que centrar los sistemas de innovación únicamente en conseguir mejoras tecnológicas, aunque conviertan a aquellos en productivos y eficaces económicamente, no es del todo eficiente debido a la falta de respuesta ante los retos y problemas sociales de carácter complejo y multidimensional (BLANCO; CRUZ y MARTINEZ, 2016). Esto justifica por qué la innovación social, que se presenta como una solución participativa y cooperativa, es un fenómeno que debe ser fomentado para coadyuvar a resolver los retos actuales que amenazan el bienestar y la misma estabilidad de la sociedad.

La comprensión de las actividades de innovación y de su impacto económico ha sido objeto de estudio en numerosas investigaciones a lo largo de las últimas décadas. De hecho, existe una creciente literatura que trata dicha cuestión y que no la ha logrado comprehender de una forma totalmente eficiente e integradora. Las deficiencias a la hora de abordar el concepto de innovación se derivan, principalmente, de la existencia de los tipos muy diversos de ésta.

Muestra de la existencia del proceso histórico de la innovación social es la creación, durante el siglo XIX, de los microcréditos, de los sindicatos obreros y de los nuevos modelos de producción y distribución basados en el cooperativismo. También, durante las primeras décadas del siglo XX, se destacan la aparición de sistemas de ayudas sociales y de atención infantil. Sin embargo, este fenómeno siguió atrayendo la atención institucional hasta finales de la década de los 80 del siglo pasado (GARCÍA-FLORES et al, 2019). Dicha

atracción es primordial para el desarrollo y fomento de las innovaciones habida cuenta que, como señala Yépez (2017), la influencia del aspecto institucional debe de ser tenida en cuenta cuando se reflexiona acerca de la capacidad innovadora de los países y las regiones en el marco teórico de los sistemas de innovación.

En la Amazonía, específicamente en el Brasil, existe la creación de mercados institucionales que tienen entre sus objetivos combatir algunos retos sociales como el hambre y la pobreza en el ámbito local (mediante la suministración de la alimentación escolar y fortaleciendo la agricultura familiar, respectivamente). Esos mercados institucionales tienen una lógica que diverge frontalmente de la lógica de mercados tradicionales y son dirigidos al segmento de la agricultura familiar que, según Cazela, Bonnal y Maluf (2009), tiene una multifuncionalidad – económica, ambiental, social y de seguridad alimentaria – considerada de carácter estratégico para el país.

Existe un amplio consenso acerca de las potencialidades y los efectos positivos que genera la innovación social en los territorios. No obstante, la falta de acuerdo se hace patente cuando se trata de definirla y comprender cómo ésta se hace efectiva.

El presente trabajo nace del convencimiento de la necesidad de discutir la naturaleza diferenciada del mercado institucional que en sí mismo es una innovación social enfocada a la agricultura familiar en la Amazonía brasileña. Esa necesidad está sustentada en el intento de comprender cuál es la variable considerada de mayor potencial para que el diseño de dicha innovación sea proficuo en la práctica.

INNOVACIÓN SOCIAL

Actualmente hay una evidente falta de consenso en la literatura acerca del significado de innovación social a pesar de lo prolífico de la investigación en torno a la misma. Para Mossealaer (2016); Salom-Carrasco; Pitarch-Garrido y Sales-Ten (2017), esto impide encuadrar el término en una definición concreta y generalmente aceptada.

Son muchos los autores que han definido innovación social con análisis ciertamente solventes y de gran valor para el avance científico en la materia. Dada la heterogeneidad de las definiciones presentes en la literatura se presenta una revisión de estas (tabla 1).

AUTOR	DEFINICIÓN DE INNOVACIÓN SOCIAL
Mulgan (2006)	Es el conjunto de actividades y servicios innovadores que son llevados a cabo fundamentalmente por organizaciones cuyo objetivo principal es social y que tienen como finalidad satisfacer una necesidad o reto del mismo tipo.
Nesta (2008)	La innovación social consiste en desarrollar nuevas ideas para abordar problemas o necesidades sociales. Por ejemplo, un nuevo producto, un servicio, una iniciativa, un modelo organizativo o un nuevo enfoque para la prestación de servicios públicos.

Pot y Vaas (2008)	Es un concepto más amplio que el de la innovación organizacional. Incluye ejemplos tales como la gestión dinámica, la organización flexible, el trabajo más inteligente, el desarrollo de habilidades y competencias y la creación de redes entre organizaciones. Es un complemento de la innovación tecnológica.
Phills; Deiglmeier; Miller (2008)	Una innovación social puede ser un producto, un proceso de producción o una tecnología; en todos estos casos muy similar a la innovación en general. Pero también puede ser un principio, una idea, una legislación, un movimiento social, una intervención o una combinación de todos ellos. Hacen referencia a la innovación social como herramienta para solucionar problemas colectivos y no, solamente, los individuales.
Sanchis y Campos (2008)	Tiene por objeto la introducción de cambios relacionados con nuevas formas organizativas y de gestión dentro de la corporación. Entre sus principales objetivos figuran la inserción sociolaboral de personas (principalmente aquellas con mayor riesgo de exclusión) y la protección y el respeto al medioambiente mediante el crecimiento sostenible.
Harris y Albury (2009)	Es una innovación beneficiosa, tanto para el bien social como para el interés público. Amén de ser una innovación inspirada en el deseo de satisfacer las necesidades sociales que pueden estar descuidadas por las formas tradicionales de provisión del mercado y que, a menudo, han sido mal atendidas o no resueltas por los servicios organizados por el sector público.
Howaldt y Schwarz (2010)	Es una nueva combinación y/o configuración de las prácticas sociales en ciertas áreas de acción o contextos sociales, la cual está impulsada por ciertos actores de una manera intencionalmente dirigida con los objetivos de satisfacer mejor las necesidades y solventar problemas sociales.
Hubert (2010)	Es el conjunto de nuevas ideas, productos y servicios que – simultáneamente - satisfacen necesidades sociales de forma más efectiva que sus alternativas previas, creando así nuevas relaciones o colaboraciones entre los actores.
OCDE (2011)	Es la agrupación de nuevos mecanismos y normas que consolidan y mejoran el bienestar de las personas, las comunidades y los territorios en términos de inclusión social, creación de empleo y calidad de vida.
Caulier-Grice; Davies; Patrick y Norman (2012)	Es el grupo de nuevas soluciones (productos, servicios, modelos, mercados, procesos, etcétera) que satisfacen simultáneamente una necesidad social - de manera más efectiva que las soluciones ya existentes - y conducen hacia nuevas y mejoradas relaciones y capacidades, así como hacia un mejor uso de los activos y recursos.
Oosterlynck; Kazepov; Novy; Cools; Barberis y Wukovitsch; Leubolt (2013)	Es el conjunto de prácticas que suceden en ámbitos locales y que ayudan a las personas en exclusión social y a los grupos sociales empobrecidos a satisfacer necesidades sociales básicas para las cuales no encuentran soluciones adecuadas ni en el mercado privado ni en las macro-políticas de bienestar.
Moulaert; Maccallum y Hillier (2013)	Trata sobre la inclusión social y acerca de contrarrestar y superar las fuerzas reaccionarias que están dispuestas a fortalecer o preservar situaciones de exclusión social.
Comisión Europea (2013)	Es el desarrollo e implementación de nuevas ideas (productos, servicios y modelos) para satisfacer las necesidades sociales, crear nuevas relaciones sociales y ofrecer mejores resultados. También sirve de respuesta a las demandas sociales que afectan el proceso de interacción social, dirigiéndose a mejorar el bienestar humano.
Paz (2015)	Es el resultado de un proceso de aprendizaje colectivo que proporciona soluciones novedosas para satisfacer demandas y necesidades sociales.
Word Economic Forum; Schwab Foundation For Social Entrepreneurship (2016)	Es la aplicación de un enfoque innovador, práctico y sostenible - basado en el mercado - para beneficiar a la sociedad en general y, en especial, a las poblaciones de bajos ingresos o desatendidas.

García-Flores y Palma Martos (2019)	Es el conjunto de prácticas o iniciativas llevadas a cabo por la comunidad que - a partir de los productos, servicios o modelos que generan o bien a través del proceso diseñado para conseguir sus objetivos - alcanzan soluciones que dan una mejor respuesta, de forma alternativa y creativa, a problemas o necesidades sociales.

Tabla 1 – Distintas definiciones de innovación social

Fuente: elaboración a partir de los trabajos citados, 2020.

Las diferentes perspectivas para definir innovación social muestran que la expresión ha resultado problemática desde sus orígenes toda vez que, tanto ‘innovación’ como ‘social’, son términos que al ser utilizados en la misma frase crean un nuevo concepto de gran vastedad según Djellal y Gallouj (2012). Por esta razón, un ejercicio de síntesis es interesante para analizar los diferentes aspectos de dicho concepto, el cual también permite identificar tres enfoques principales, conforme Ruede y Lurtz (2012); García-Flores el tal (2019), y son:

Innovación Social Empresarial: ésta se entiende desde una perspectiva en la que la empresa privada es un elemento central del concepto. Hay una alta referencia a la introducción de novedades en los procesos de gestión, a las mejoras en la organización y a la solución de problemas sociales individuales o colectivos desde la empresa (SANCHÍS; CAMPOS, 2008 y WORD ECONOMIC FORUM, 2016). También es la encargada de realizar las innovaciones sociales. Están dentro de este enfoque prácticas tan variadas como el emprendimiento social, la mejora de las condiciones sociales dentro de las empresas, la responsabilidad social y la creación de una producción más sostenible y con menor impacto ambiental (GARCÍA-FLORES et al, 2019).

Innovación Social Transformadora: esta perspectiva hace referencia a la innovación social como elemento de transformación social. Se encuadrarían dentro de ella aquellas actuaciones innovadoras que, ante la ineficiente respuesta del sector público y el mercado, son llevadas a cabo desde la acción colectiva atendiendo a necesidades y problemas de marcado carácter local (MOULAERT et al, 2013). También se resalta la lucha de las comunidades y de los movimientos sociales para crear alternativas sociales y mejorar el bienestar social. Esta corriente de pensamiento entiende que los sujetos que llevan a cabo las prácticas socialmente innovadoras son: las empresas sociales, las entidades y organizaciones sin ánimo de lucro, las asociaciones de la sociedad civil y las cooperativas (MULGAN, 2006).

Innovación Social Integradora: este enfoque permite agrupar los casos de iniciativas socialmente innovadoras expuestos anteriormente. Es una solución amplia que surge fruto de la convivencia paralela de las dos perspectivas previamente mencionadas. La innovación social es entendida como un concepto vasto, caracterizado por solventar todo tipo de problemas y necesidades sociales, ofreciendo mejores resultados para toda la sociedad

que los existentes hasta ese momento. Desde esta perspectiva: se reconoce la existencia de diferentes tipos y grados de innovación social y se entiende que las iniciativas pueden estar desarrolladas por el sector público, el sector privado o la sociedad civil (NESTA, 2008; HUBERT, 2010 y COMISIÓN EUROPEA, 2013).

Por lo tanto, la innovación social es un fenómeno que puede ser abordado desde diferentes perspectivas. Es especialmente interesante ser analizada en las ciudades – consideradas como ámbito local - dado que en ellas los retos sociales se reflejan de forma más evidente según Subirats (2015) y Blanco (2018). Con referencia a esto último, afirman Moulaert et al (2004) que establecer estrategias de desarrollo basándose en la innovación social es de gran utilidad para lograr un cambio de gobernanza en las comunidades locales. A pesar de ello, recuerda Subirats (2015) que - aun cuando se consigan esas ansiadas transformaciones en la gobernanza, - hay que tener en cuenta que los gobiernos locales ocupan "una posición periférica en el entramado de un gobierno multinivel" y tienen unos recursos que en ocasiones resultan insuficientes para afrontar problemas de gran envergadura.

GENERACIONES DE POLITICAS PÚBLICAS PARA LA AGRICULTURA FAMILIAR

Cuando se trata de agricultura en Brasil hay una separación casi radical entre la agricultura de gran escala (el agronegocio) y la agricultura familiar. La diversidad social y económica de los agricultores depende no solamente de la heterogeneidad de los sistemas de producción, sino también de la existencia de diferentes canales de comercialización. En esta lógica está la construcción de los mercados institucionales, enfocados en la categoría considerada estratégica para el país dada su multifuncionalidad: la agricultura familiar.

Hay tres generaciones sucesivas de políticas públicas en Brasil, dirigidas a la agricultura familiar, que siguen adaptándose a nuevos contextos sociales y políticos. La primera generación surge como respuesta a las presiones de los movimientos sociales y se refiere a las políticas de asentamientos e incrementos; la segunda generación tiene su objetivo centrado en las acciones sociales y de cuidado. Ambas se destinan a apoyar y espolear la producción para el mercado capitalista, careciendo así de iniciativas dirigidas al autoconsumo, a la venta directa y a la implementación de mercados locales de proximidad (circuitos cortos entre productores y consumidores). Dicha carencia es tratada por la tercera generación que se hace efectiva a través de programas de compras institucionales directamente del agricultor familiar (o por sus entidades representativas) por medio del *Programa de Aquisição de Alimentos* (PAA) y el *Programa Nacional de Alimentação Escolar* (PNAE).

Entre otros objetivos se instituyeron los programas para insertar los productos de la agricultura familiar en las compras del gobierno a través del enfoque del mercado

institucional bajo la forma del circuito corto de producción y consumo. De este modo, al mismo tiempo que apoya el incremento de la producción agrícola familiar, promueve el desarrollo local donde se encuentran los productores familiares.

Las políticas públicas fueron formuladas en momentos distintos de la historia brasileña por diferentes grupos de actores sociales. Según los estudios de Grisa y Schneider (2014), al principio, los principales grupos que trabajaban en la construcción del referente para la política pública centrado en la agricultura familiar fueron conformados por los representantes sindicales, por los movimientos sociales de la agricultura familiar, por políticos y gestores públicos y por estudiosos del medio rural. Posteriormente, se añadió la participación de representantes de la agroindustria. Además, hogaño, existe la participación de organizaciones del campo agroecológico y organizaciones de la sociedad civil vinculadas al tema de la seguridad alimentaria y nutricional. La Figura 1 ilustra estos grupos.

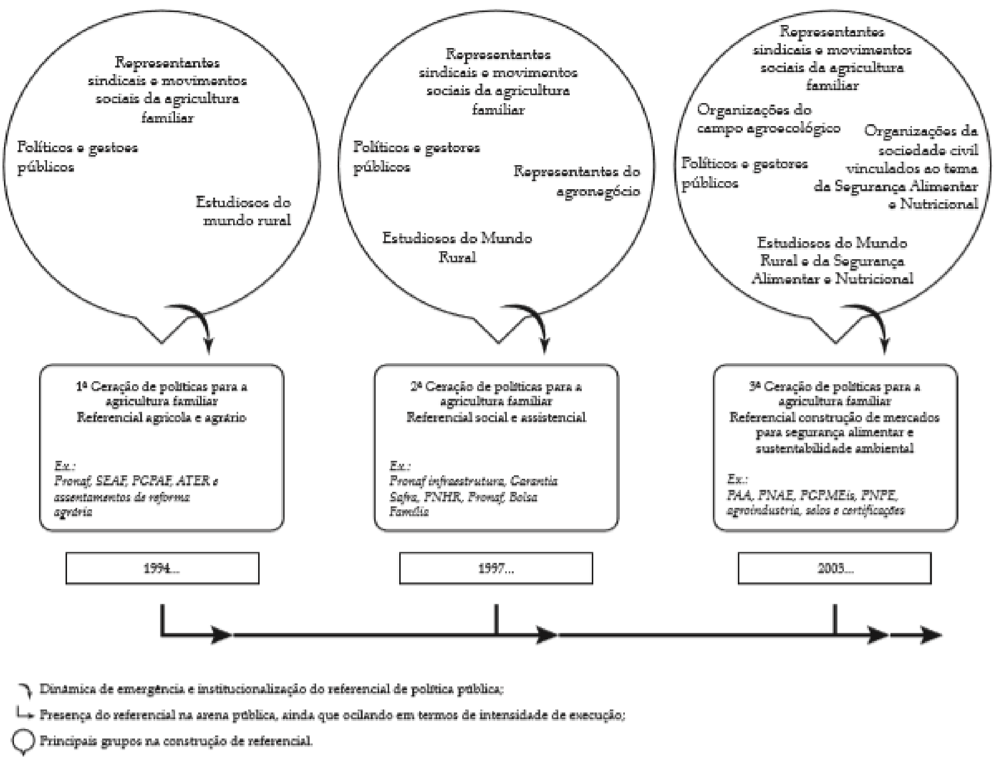


Figura 1-Principales grupos de actores que actúan en la construcción de un referente de política pública para la agricultura familiar a lo largo de los años.

Fuente: Grisa y Schneider (2014).

Las tres generaciones son importantes tanto en términos de estrategias de desarrollo local como en términos de reproducción social de la agricultura familiar. La innovación social, que se configura como el mercado institucional para dicha categoría, considera su carácter estratégico en términos de su multifuncionalidad y lo estructura en condiciones diferenciadas de producción, comercialización e inversión vía el PNAE.

CONTEXTO DEL PAA Y DEL PNAE EN BRASIL

El PAA fue establecido por el Art. 19 de la Ley nº 10.696, de 2 de julio de 2003, con el fin de fomentar la agricultura familiar - con inclusión económica y social, con promoción de la producción, transformación e industrialización de los alimentos y la generación de ingresos (BRASIL, 2003). Fue creado como un instrumento de acceso a los alimentos, que para Paganini (2010), permite la conexión entre producción y consumo adecuada a la realidad local y contribuye al fortalecimiento de la agricultura familiar y la generación de ingresos.

El Programa beneficia no solamente a los agricultores familiares, sino también a las entidades socio asistenciales, además de toda la red de relaciones entre producción y consumo. Según (Cunha et al., 2017), el programa es importante para la economía local tanto por tratar de promover el desarrollo de la agricultura familiar – incentivando la participación de las mujeres en el mercado y estimulando lo cultivo de alimentos orgánicos - tratando así de la seguridad alimentaria.

La operacionalización es realizada por la *Compahia Nacional de Abastecimento* – CONAB en asociación con estados y municipios. El Estado, la sociedad y el mercado desempeñan un papel importante en el programa en las áreas de producción, distribución y consumo.

Según De Schutter (2014), el programa es una de las políticas de contratación pública más amplias del mundo. Los informes de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) ponen de relieve la innovación del PAA para conectar los mercados destinados a fortalecer la agricultura familiar y la seguridad alimentaria y nutricional (SANCHES, et al., 2014; GRISA y SCHNEIDER, 2014; y GRISA y SCHNEIDER, 2015).

Al igual que el Programa y algunas experiencias exitosas en el campo, se ha regulado la adquisición de productos de agricultura familiar para la alimentación escolar vía PNAE.

Como señala Lopes (2018), la creación del PNAE (Ley 11.947/2009) fue resultado - por una parte - de la adopción de acciones públicas descentralizadas en materia de alimentación escolar y - por otra parte - de la labor de sensibilización realizada por técnicos, científicos y especialistas implicados en los temas de la seguridad alimentaria y de la lucha contra el hambre a través del programa “Fome Zero”. Esos factores impulsaron la estrategia de desarrollar e implementar una innovación social para combatir diversos retos sociales por medio de la creación de un mercado institucional.

El PNAE establece que los municipios que reciben los recursos del *Fundo Nacional para o Desenvolvimento da Educação* (FNDE) están obligados a asignar como mínimo el 30% del monto para la adquisición de alimentos procedentes de la agricultura familiar. Esta compra puede realizarse de modo directo o por medio de organizaciones priorizando, dentro de ellas, los asentamientos de la reforma agraria, las comunidades indígenas tradicionales y comunidades de quilombolas para alimentar a los estudiantes (BRASIL, 2009). El PNAE es una de las políticas públicas que – centrándose en el desarrollo local – se basa, a su vez, en el derecho de los estudiantes a una alimentación saludable y adecuada.

El programa tiene como objetivo actuar de tres maneras importantes que lo diferencian como política pública: asume como público el debate de alimentos de calidad y las implicaciones de esto para superar la desnutrición y la obesidad, cuestionando - al mismo tiempo - la hegemonía de la industria alimentaria en la definición del estándar alimentario de las poblaciones; promueve el desarrollo local y crea estrategias para la comercialización de productos no orientados por el mercado convencional, creando posibilidades para el desarrollo de sistemas agroalimentarios alternativos e incluyendo a nuevos actores sociales - agricultores familiares - en los mercados en construcción; garantiza – al considerar al Estado como consumidor - el mercado a los productores considerados como periféricos por el mercado convencional, funcionando como un instrumento importante para fortalecer los sistemas agroalimentarios alternativos, permitiendo el anclaje inicial que los agricultores necesitan para consolidar sistemas de producción diferenciados, según Balem (2015).

La experiencia institucional brasileña de implementación de la innovación social de reajuste de la alimentación escolar a través del PNAE creando un mercado institucional ha servido de ejemplo a otros países, especialmente Africa y América Latina. Estos se han reflejado en Brasil para (re)elaborar y (re)desarrollar sus programas de alimentación escolar con miras a utilizar los mismos recursos invertidos en la alimentación escolar para promover el desarrollo socioeconómico (FAO, 2013 y TRICHES et al., 2013).

MERCADOS INSTITUCIONALES DESDE EL ENFOQUE TEÓRICO DEL CAPITAL SOCIAL

Un análisis estrictamente económico o institucional del PNAE es insuficiente para entender los resultados del Programa y para explicar las dificultades y límites que ha ido encontrando en su aplicación. Sin embargo, las ideas contenidas en el enfoque del “capital social” arrojan luces sobre aspectos menos visibles del Programa por ser menos cuantificables, pero no por eso menos importantes (v.gr. las relaciones de cooperación y confianza entre los diversos actores implicados en el PNAE en un territorio determinado).

El enfoque del “capital social” ofrece interesantes conceptos y herramientas analíticas (*bonding, bridging, linking*) para comprender el funcionamiento de un programa como el PNAE cuya implementación exige la participación de la sociedad civil. Es un programa que

requiere un nivel de sinergia y colaboración social e institucional tal, que solamente puede alcanzarse si existe - en la correspondiente comunidad local – un grado de confianza entre individuos y entre instituciones lo suficientemente fuerte como para resolver los dilemas de la cooperación tan habituales en ambientes pauperizados, según Woolcock y Narayan (2000); Millan y Gordon (2004); Moyano, (2008).

Según Flingstein y Dauter (2006), los mercados locales presuponen espacios sociales de intercambio de bienes y servicios que operan en función de arreglos y normas formales e informales, así como de costumbres culturales más amplias. Los mercados locales generan un sustrato social que es fruto de la interacción social y de la cooperación entre las personas y que puede verse como un "bien público" (i.e. como un capital intangible que se aproxima al concepto de capital social tal como lo entiende autores como Coleman (1988) y Putnam (1993).

El enfoque del "capital social" es una herramienta fundamental en el estudio de las dinámicas sociales que subyacen a situaciones como la del mercado institucional que se genera en el proceso de implementación del PNAE a nivel territorial.

Los conceptos e ideas aportadas por el enfoque del "capital social" pueden medirse a nivel empírico. Se puede observar cómo fluye la información entre los diversos actores del PNAE y cómo se establecen los mecanismos de restricción y coerción (o de cooperación) debido a los vínculos de confianza (o de desconfianza) entre ellos. Se puede observar también cómo, a partir de esos vínculos, se crean lazos fuertes entre los actores implicados en el Programa favoreciendo una interacción social de naturaleza afectiva más estrecha dentro de los grupos primarios (dimensión *bonding* del capital social), pero también crean lazos débiles que favorecen las relaciones con actores más alejados de estos grupos (dimensión *bridging*) y que permiten ampliar el campo de relaciones sociales y - en consecuencia - el horizonte de las estrategias utilizadas (GRANOVETTER, 1985).

Además, se puede ver el grado e intensidad de las relaciones entre actores que se encuentran en situaciones inequitativas de poder y autoridad dentro del Programa (dimensión *linking* de capital social); así también, relaciones que son fundamentales para comprender el desarrollo de políticas donde se combinan estrategias *top-down* (descendentes) y *bottom-up* (ascendentes). De ese modo, se puede contribuir a explicar el más o menos eficiente funcionamiento del PNAE a partir de las características de su estructura relacional (forma, intensidad y dirección de las relaciones sociales), dado que es una estructura cuyo conocimiento requiere precisamente el uso de estas dos estrategias.

NOTA METODOLOGICA

La base teórica utilizada es el capital social. Se toma como la cohorte los municipios del estado de Pará puesto que tienen una base económica fundamentada en la agricultura familiar. La investigación adopta una metodología que utiliza los principios del *compliance*,

determina los indicadores de cumplimiento de las normas establecidas por los Programas y la capacidad de los municipios y productores locales para atenderlos y, finalmente, identifica - por medio de documentos y entrevistas con algunos actores - las formas e intensidad de las interacciones entre las organizaciones locales envueltas en los procesos. Son utilizados como métodos el Estudio de Caso y el Análisis de Contenido conforme a lo propuesto por Yin (2001, 2009) y Bardin (1977, 2011), respectivamente.

Se trata de una investigación exploratoria, descriptiva y documental con recopilación de datos correspondientes al periodo comprendido del 2011 al 2018 (con algunas variantes dada la heterogeneidad de la disponibilidad de éstos) en los municipios del estado de Pará.

Para el análisis de los Programas se escrutaron diferentes documentos como edictos, actas de las convocatorias públicas y extractos de los contratos; además, se llevaron a cabo entrevistas con algunos actores. De dicho análisis fueron extraídas las siguientes variables referentes tanto a las acciones de los ayuntamientos municipales, como del programa de forma general mediante entrevistas, respectivamente:

1. PAA

1.1. Recursos aplicados;

1.2. Número de municipios atendidos;

1.3. Participación de otras comunidades;

1.4. Cantidad de productos comprados;

1.5. Número de participantes (agricultor familiar);

2. PNAE

2.1. Características de las convocatorias públicas;

2.1.1 Número de convocatorias públicas;

2.1.2 Información sobre precios;

2.1.3 Periodicidad;

2.1.4 Lugar de entrega;

2.2. *Compliance* del Art. 14 de la Ley 11.947/2009;

2.3. Spread de atractividad para el agricultor familiar – número de agricultores familiares menos el número de agricultores familiares con *Declaração de Aptidão ao Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar* – DAP/PRONAF.

Se recopilaron datos oficiales de la *Companhia Nacional de Abastecimento*; del *Ministerio de Educação/Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação/PNAE*; *Sistema de Oportunidades* (contratación pública para la agricultura familiar); *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE* y *Portal Brasileiro de Datos Abertos*.

A efectos analíticos, las categorías de escrutinio han sido las siguientes: i) las obligaciones y compromisos de los actores sociales e institucionales de los Programas según el grado de confianza entre ellos; ii) el potencial informativo generado de las relaciones sociales al facilitar, a los diversos actores de los Programas, el acceso a la información; iii) la atribución de autoridad a ciertos actores para el ejercicio del correspondiente liderazgo, y iv) el nivel de reciprocidad y ayuda mutua como expresión real de la solidaridad y cohesión social existente dentro de la comunidad local.

PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Las operaciones del PAA realizadas entre 2011 y 2017 en los municipios del estado de Pará no muestran regularidad. El punto clave de esta observación se concentra en 2013, cuando - en todo el Brasil - se ejecutaron 38% de los recursos en comparación con 2012, en los municipios del estado de Pará esta reducción fue aún mayor, alcanzando 94% en comparación con el referido año. La baja ejecución puede atribuirse a diferentes factores, tales como: reducción de la demanda de compra directa, cancelación de la formación de inventario con liquidación física, remodelación de las regulaciones dentre otros.

La capilaridad del programa por parte de los municipios todavía carece de robustez, sin embargo, los beneficios evidenciados son diversos, entre ellos se puede señalar directamente a la generación de ingresos para los agricultores familiares, el aumento de la producción, mejora de los alimentos para las personas en situaciones del inseguridad alimentaria y nutricional.

En el desarrollo de sus acciones el Programa prioriza proyectos que cuentan con la participación de dos categorías, que son: agricultores familiares y agroextractivistas - basados en la reforma agraria, afectados por presas, comunidad indígena, pescadores y quilombolas -que se denominan como “otras comunidades”. La participación de estos grupos en este mercado institucional es representativa y denota un logro exitoso.

Compartiendo la comprensión de Baccarin et al., (2017), se supone que los lugares donde la agricultura familiar tiene una mayor expresión económica, los agricultores tienen una mayor integración en los mercados, una mayor capacidad de asociación, de remisión de reclamos y, alto volumen de productos a entregar. Sin embargo, contrariamente a esta premisa, hay municipios en el estado de Pará cuya base económica se fundamenta en la agricultura familiar y la capacidad de participación de los agricultores familiares no alcanza el 1% de los que pueden participar en este mercado. Por lo tanto, está claro que hay desafíos a los que deben hacer frente los agricultores familiares para la integración en el mercado. Estos desafíos se plantean tanto en cuestiones legales como burocráticas, como el acceso a las convocatorias públicas, que se elaboran en virtud de la ley para tener conocimientos para desarrollar sus proyectos de ventas.

La pertinencia del Programa se observa en el fomento de la agricultura familiar con generación de ingresos, seguridad alimentaria y nutricional para las poblaciones

urbanas y rurales y el mantenimiento de la biodiversidad apoyando a las comunidades indígenas, quilombolas y extractivas. Ejemplo de eso son los casos en que pasaron de receptores de cestas básicas a proveedores de alimentos a los Programas sociales. Por lo tanto, el Programa proporciona la inserción digna y respetuosa de estas comunidades en el mercado local desde el establecimiento de concertaciones sociales basadas en una percepción renovada, superando los preconceptos y reconociendo su papel en el desarrollo local. En la Tabla 2 estan sistematizadas las variables del PAA.

Año	Recurso Aplicado (R$)	Municípío Atendido %	Participación de otras Comunidades	Productos Comprados (t)	Número de Participantes (Agricultor Familiar)
2011	6.348.604	41 _ 29%	399	2.988	1.211
2012	9.709.126	45_31%	548	4.102	1519
2013	550.683	3 – 2%	3	457	107
2014	2.063.124	9 – 6%	74	1.270	234
2015	2.289.544	10 – 7%	170	1.164	134
2016	3.157.283	10 – 7%	122	1.460	285
2017	5.687.855	22 – 15%	S/D	2.657	745

Tabla 2 – Panorama de la Gestión del Programa de Aquisición de Alimentos – 2011 a 2017

Fuente: CONAB y Portal Brasileiro de Dados Abertos, sistematizado por los autores (2019).

Referente al PNAE se analizaron todas las convocatorias públicas de los municipios del estado de Pará de los años 2017 y 2018. Se buscó verificar su eficiencia para llegar al público *target* y, de esta manera, contribuir a un mayor volumen de compra a los agricultores familiares estimulando el desarrollo local. La calidad de las convocatorias públicas depende de la explicitud de los precios a pagar, de la información sobre la periodicidad y de los puntos de entrega.

Durante este período, 55 municipios publicaron 60 convocatorias públicas – CP`s. De este total, 24 CP's no ofrecieron información sobre el precio de los productos a comprar. Ésta es una de las principales variables que hace imposible la participación del agricultor familiar y que, al mismo tiempo, es contraproducente al incitar - de esta manera - la disputa de precios entre los agricultores familiares, amén de contravenir la legislación en este ámbito.

Los precios se van incrementando a medida que se deba escalar los diferentes niveles de producción (local, territorial, estatal y nacional) para poder adquirir los productos. Adicionalmente, aquéllos no pueden ser motivo de disputa entre los agricultores familiares, dado que es un requisito que sean fijados en las CP's. Sin embargo, esto no es lo que se observa en el 40% de éstas.

El precio fijado supone un reto de equilibrio entre dos elementos: primero, el gasto público y segundo, el ingreso para los agricultores familiares. Si por un lado el ayuntamiento debe tratar de adquirir tantos productos como sea posible por el precio más bajo; por otro lado, el incentivo para que el agricultor familiar participe en el Programa es un precio por encima del mercado convencional. Este equilibrio se ve beneficiado por el hecho de que la compra se produce en canales más cortos que los convencionales disminuyendo así el margen de comercialización.

En el caso de los productos ecológicos, si no se pudiera calcular el precio a nivel local, se deberá tomar como patrón de precio el producto tradicional equivalente e incrementarlo en su 30% para, de este modo, estimar el precio del primero, según la resolución del FNDE n. 4 de 2015 (BRASIL, 2015). El costo final - que el agricultor solventará - debe incluir todos los gastos de embalaje, transporte e impuestos que él pueda tener.

En lo que respecta a los datos de la "periodicidad de la entrega" de los productos alimenticios comprados a los agricultores familiares, solamente estaban consignados en 29 de las 60 CP`s. Por lo tanto, el 52% presentó esta debilidad. Éste es un defecto importante teniendo en cuenta que esta información es vital para la planificación y decisión del agricultor familiar.

De las periodicidades registradas en las CP's, se evidenció la preferencia por las entregas semanales las cuales son compatibles con las condiciones de los agricultores familiares y con la compra de hortalizas frescas (que son los artículos más solicitados por los municipios paraenses). Las entregas de más de una vez a la semana son muy costosas para los agricultores familiares y solamente una (01) CP hizo esta solicitud con este tenor. Las entregas de una mayor lapso que la semanal suelen estar relacionadas con productos no perecederos. La Tabla 3 muestra el número de unidades de recepción definidas en las CP's.

Periodicidad	Número de Convocatorias Públicas
2-5/semana	1
Semanal	19
1 a 2/mes	4
Otro	5
No hay información	31

Tabla 3: Acciones de los ayuntamientos municipales - Convocatorias Públicas - Periodicidad 2017 a 2018

Fuente: *Sistema Oportunidades*, sistematizados por los autores (2020).

En lo que concierne a los datos del "número de unidades de entrega" de los productos alimenticios adquiridos a los agricultores familiares se halló que, de las 60 CP`s,

solamente en 27 se registraron esta información. Por lo tanto, el 55% no hizo que esta información estuviera disponible. Y, en última instancia, cuando hicieron referencia a esta información fue para mencionar que divulgarían dichos datos, posteriormente, de acuerdo con sus necesidades.

Las CP`s que centralizan la entrega de los productos favorece al agricultor familiar, habida cuenta que - desde 2015 - el costo de la logística está incluido dentro del límite que el agricultor familiar puede vender por entidad ejecutora.

En las CP's que fueron analizadas la mayoría centralizó las entregas, pero una parte significativa solicitó la entrega en diferentes lugares (de 11 a 50 unidades) y, solamente, 2 CP`s solicitaron entrega en todas las escuelas del área urbana y rural, con un total de más de 50 unidades. La sistematización de este análisis se expone en el Tabla 4.

Número de Unidades de Entrega	Número de Convocatorias Públicas
1	14
2 a 10	1
11 a 50	11
Más de 50	2
No hay información	32

Tabla 4: Acciones de los ayuntamientos municipales - Convocatorias Públicas - Unidades de Entrega - 2017 a 2018

Fuente: *Sistema Oportunidades*, sistematizados por los autores (2020).

Las CP`s presentan debilidades con respecto a brindar información de vital importancia para que el agricultor familiar decida participar en el Programa. Información que comprende: precios a pagar, la periodicidad de las entregas y el número de unidades de entrega. Dicha información es escasa en estos documentos y esto perjudica la eficiencia y eficacia del Programa.

Además, se observó que - a pesar de que la Ley nº 12.527/2011 (*Lei de Aceso à Informacão*) indica como mandatorio, para los municipios que sobrepasen los 10 mil habitantes, la divulgación mediante internet de datos de interés colectivo – muchos municipios no revelan ni sus CP's ni sus extractos de contratos. El sitio físico de la difusión de los avisos también es importante para que el agricultor familiar tenga conocimiento independientemente de su acceso a internet.

Se llevó a cabo una evaluación cuantitativa del cumplimiento del Art. 14 de la Ley nº 11.497/2009 que ordena que al menos el 30% de los recursos transferidos para el PNAE (a través del FNDE) deben ser utilizados - por los municipios - en la adquisición de productos provenientes de la agricultura familiar. Los municipios se agruparon en función de la relación entre el porcentaje de compra y de las transferencias hechas al PNAE. Los datos sistematizados se muestran en la Tabla 5.

AÑO	Sin Aquisición	0,1% a 10%	10,1% a 25%	25,1% a 35%	Arriba de 35%
2011	83	22	18	18	2
2012	76	21	19	16	11
2013	29	23	46	25	21
2014	25	17	41	35	26
2015	16	19	41	38	30
2016	30	17	37	30	30

Tabla 5: *Compliance* del Art. 14 de la Ley 11.947/2009 - 2011 a 2016

Fuente: MEC/FNDE/PNAE, sistematizado por los autores (2020).

Todavía hay un número significativo de ayuntamientos refractarios al cumplimiento del Art. 14. Son municipios que no adquieren nada de la agricultura familiar, alcanzando – preocupantemente - el 21% en 2016. Sin embargo, hay un número alentador de ayuntamientos muy adherentes llegando, también, al 21% en 2016. Desde el inicio del período de análisis, el número de municipios que adquirieron productos de la agricultura familiar - disponiendo para ello de más del 35% de recursos provenientes del PNAE - aumentaron de 2 (dos) en 2011 a 30 (treinta) en 2016.

A los ayuntamientos que fueron refractarios al Art. 14 no se les aplicó ningún castigo porque se entiende que - por ejemplo - un posible bloqueo de transferencias del Programa como medida punitiva golpearía directamente a los estudiantes.

Al observar el aumento en el número de ayuntamientos clasificados como muy adherentes al Art. 14, este incremento parece relacionarse a un proceso endógeno de cambio que tiene en cuenta no solamente la calidad de la vida económica, sino también la calidad de vida de la comunidad. Este aspecto es el que conduce al desarrollo local y, sin duda, es un proceso que se favorece a través de la manutención y el fortalecimiento del capital social en la comunidad.

Después de la observación sobre el número de municipios que cumplen con el Art. 14, los esfuerzos se centraron en crear y analizar el "*Spread* de Atractividad" del PNAE para los agricultores familiares. Según el Censo Agrícola realizado por el IBGE en 2017 había 213.264 agricultores familiares en el estado de Pará; mientras el número de agricultores familiares con la DAP era de 96.763 de acuerdo con los datos disponibles en el *Portal Brasileiro de Dados Abertos* en el mismo año. Los análisis muestran que el *Spread* de Atractividad es del 55%, lo que significa que el PNAE no se configura como una innovación social atractiva para 116.501 agricultores familiares. Unas de las principales causas generadoras de este *Spread* es la carga burocrática a cumplir por los agricultores familiares (tanto en la forma como en el fondo) así como la interfaz tenue con otras políticas públicas.

Según estudios realizados por Bevilaqua y Triches (2014); Triches y Grisa (2015), entre las principales razones de escasa atractividad se encuentran la documentación de los

agricultores, la dificultad de la logística, los precios pagados por los productos, la falta de formación e información y, de manera destacada, la desconfianza en la interrelación con las autoridades (factor que muestra la necesidad de fortalecimiento del capital social).

Los resultados indican que las principales dificultades para que los agricultores familiares participen en este mercado institucional se concentran, principalmente, en las acciones de los municipios - con respecto a la estructura de las convocatorias públicas - que en no pocos casos contravienen la legislación: no fijar precios, no explicitar la periodicidad y no explicitar el número de lugares de entrega.

La legislación que rige el uso de los recursos del PNAE en la agricultura familiar es relativamente nueva y pasa por un período de adaptación de los gestores municipales; esto se evidencia cuando el número de municipios sin *compliance* de la legislación disminuye, a la vez que el número de municipios que supera el porcentaje establecido aumenta a lo largo de los años.

Las entrevistas realizadas a los actores que representan la secretaría de educación, la secretaría de agricultura y las cooperativas - correspondientes a algunos municipios adherentes al Programa - que suministran productos alimenticios (vía PNAE) corroboran lo que los datos citados anteriormente evidencian. Finalmente, y no menos importante, resaltan que las pésimas condiciones de las carreteras (así como de las conexiones fluviales) y la baja confianza entre los actores al interrelacionarse representan una significativa dificultad para la comercialización de los productos en este mercado.

Por añadidura, y como factor positivo, señalan como uno de los beneficios más visibles de esa innovación social (i.e. la creación de este mercado institucional) el estímulo de la diversificación de la producción lo cual, concomitantemente, los retira de la dependencia exclusiva de las grandes redes de abastecimiento y los conduce por el sendero de la soberanía alimentaria.

CONSIDERACIONES FINALES

Es innegable, conforme a todos los autores presentados en esta obra, que la creación de los mercados institucionales se configura como una innovación social que tiene como presupuesto básico el capital social. Al insertar a las personas en el ámbito sociolaboral y al respetar el medioambiente vía crecimiento sostenible, según Sanchis; Campos (2008); y al beneficiar tanto el lado social como el interés público e inspirarse en el deseo de satisfacer las necesidades sociales que quizás estén descuidadas por las formas tradicionales de provisión del mercado, según Harris; Albury (2009), esta innovación social se configura con gran efecto en el ámbito local.

El principal factor identificado en esta investigación es el capital social ya que éste es esencial en toda red conformada en torno de los Programas y es en el que se basa esta innovación social (mercado institucional).

A pesar de que los Programas tengan todavía grandes problemas (muchos de ellos de índole burocrática) son políticas públicas que - indudablemente - son innovaciones sociales que cambiaron de forma positiva la dinámica de la agricultura familiar proporcionando diferentes beneficios (económicos, sociales, culturales, etcétera). Todo el diseño de esas politicas públicas adoptan como presupuesto básico el capital social.

Se destaca que hay una fuerte dependencia de las organizaciones que avituallan – aquí representadas por las cooperativas agropecuarias – en relación con el poder público. La mayoría se han constituido - inclusive - con este fin específico. Ésta es una crítica de este trabajo a la innovación social del mercado institucional.

Considerando que Brasil está en su tercera generación de politicas públicas para la agricultura familiar y que todas ellas coexisten - iniciando con formas de apoyo para estimular la producción, asistencia social y actualmente como medios para comercializar la producción - se comprende que son hechos exitosos; No obstante, hace falta estimular el fortalecimiento del capital social, tanto para que en este mercado se tenga una mayor participación – dado que hay muchos agricultores con capacidad produtiva que no participan - como para que también se rompa el círculo en el que el suministro es exclusivo para este mercado. Los autores de este trabajo defienden que esa innovación social sea una vía para resolución de los problemas colectivos de los agricultores familiares y sin que sean capturados por esta.

Se ratifica que la innovación social, configurada por los Programas, asume un carácter transversal y su eficacia depende, fundamentalmente, de otras políticas públicas que apoyen el desarrollo local. Una cuarta generación de politicas públicas para la agricultura familiar que logre una interfaz con áreas como la seguridad alimentaria, salud en el campo e infraestructura es imperativa.

REFERENCIAS

BACCARIN, José Giacomo. 2011. "Alimentação Escolar e agricultura familiar: alcance e dificuldades para implantação do Artigo 14 da Lei 11.947/2009 no Estado de São Paulo", Congresso da SOBER, 49.

BALEM, T. A.; et al. (2015). The role of Rural Extension in the viability of public procurement for school meals. In: AGRICULTURE IN A URBANIZING SOCIETY: Reconnecting agriculture and food chains to societal needs, 2.

BARDIN, L. (1977). Análise de Conteúdo. Lisboa: Edições 70.

BARDIN, L. (2011). Análise de Conteúdo. São Paulo, Edições 70, p. 279.

BLANCO, I., CRUZ, H. & MARTINEZ, R. (2016): "El papel de la innovación social frente a la crisis", CiudadyTerritorio.EstudiosTerritoriales,47(188),249-260.

BLANCO, I. (2018): “¿Frente a la desigualdad social, innovación social? Lecciones teoricas, politicas metodologicas de una investigacion en Catalunya”. En: Barón, N. & Romero, J., Cultura territorial e innovación social ¿Hacia un nuevo modelo metropolitano en Europa del Sur?,21-34.

BRASIL. 2003. Lei nº 10.696, de 2 de julho de 2003. *Dispõe sobre a repactuação e o alongamento de dívidas oriundas de operações de crédito rural, e dá outras providências.* Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 3 jul.

BRASIL. Lei no. 11.326 de 24 de julho de 2006. *Estabelece as diretrizes para a formulação da Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Familiares Rurais.* Diário Oficial da União 2006; 24 jul. 2006.

BRASIL/FNDE/CD/MEC. Lei nº 11.947, de 16 de junho de 2009. *Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar e do Programa Dinheiro Direto na Escola aos alunos da educação básica; e dá outras providências*. Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 jun. 2009a.

BRASIL. Lei nº 12.527, de 18 de novembro de 2011. *Regula o acesso a informações previsto no inciso XXXIII do art. 5o, no inciso II do § 3o do art. 37 e no § 2odo art. 216 da Constituição Federal; altera a Lei no 8.112, de 11 de dezembro de 1990; revoga a Lei no 11.111, de 5 de maio de 2005, e dispositivos da Lei no 8.159, de 8 de janeiro de 1991; e dá outras providências.* Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 dez. 2011c.

BRASIL. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Resolução/CD/FNDE nº 4, de 2 de abril de 2015. *Altera a redação dos artigos 25 a 32 da Resolução/CD/FNDE nº 26, de 17 de junho de 2013 no âmbito do Programa Nacional de Alimentação Escolar* (PNAE). Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 8 abr. 2015.

CAULIER-GRICE, J.; DAVIES, A.; PATRICK, R. & NORMAN, W. (2012): Defining social innovation. A deliverable of the project: The theoretical, empirical and policy foundations for building social innovation in Europe (TEPSIE), European Commission–7th Framework Programme, Brussels: European Commission, DG Research.

CAZELLA, A. A; BONNAL, P; MALUF R. S. (2009). Multifuncionalidade da agricultura familiar no Brasil e o enfoque da pesquisa. In: CAZELLA, A. A., BONNAL, P. e MALUF, R. S. Agricultura familiar: multifuncionalidade e desenvolvimento territorial no Brasil. Rio de Janeiro: Mauad Editora. 301.

COLEMAN, J. (1988). Social Capital and the Creation of Human Capital. American Journal of Sociology, 94 Supplement, s. 52–120.

COMISIÓN EUROPEA (2013): Guía de la Innovación social, Regional and Urban Policy, Bruselas.

CUNHA, Wellington Alvim. et al. 2017. “Efeitos dos Programas Governamentais de Aquisição de Alimentos para a Agricultura Familiar em Espera Feliz, MG”, Rev. Econ. Sociol. Rural. 55: 427-444.

De SCHUTTER, Olivier. 2014. “The power of procurement: public purchasing in the service of the realizing the right to food”, Roma: FAO. 28.

DJELLAL, F. & GALLOUJ, F. (2012): “Social innovation and service innovation. In Challenge social innovation”. En: Franz, H.W., Hochgerner, J. & Howaldt, J. (Eds), Challenge social innovation: potentials for business, social entrepreneurship, welfare and civil society, Springer Science & BusinessMedia,119-137, DOI:10.1007/978-3-642-32879-4_8.

FAO, FIDA y PMA. (2013). El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2013. Las múltiples dimensiones de la seguridad alimentaria. Roma, FAO.

FLIGSTEIN, N. & DAUTER, L. (2006). The Sociology of Markets. Institute of Industrial Relations, UC Berkeley, Institute for Research on Labor and Employment, Working Paper Series. 33. 10.1590/S0103-49792012000300007.

GARCÍA-FLORES, V; PALMA, L. (2019). Innovación Social: factores claves para su desarrollo en los territorios. CIRIEC-España, Revisa de Economía pública, Social y Cooperativa, 245-279. DOI:10.7203/CIRIEC-E.97.14148.

GRANOVETTER, M. (1985). Economic action and social structure: the problem of embededdness. American Journal of Sociology, Chicago, Illinois, v. 91, n. 3, p. 481-510.

GRISA, C.; SCHNEIDER, S. (2014). Três Gerações de Políticas Públicas para a Agricultura Familiar e Formas de Interação entre Sociedade e Estado no Brasil. RESR, Piracicaba-SP, Vol. 52, Supl. 1, p. S125-S146.

GRISA, C.; SCHNEIDER, S. (Org). 2015. "Políticas públicas de desenvolvimento rural no Brasil". Porto Alegre: Editora da UFRGS. 624.

HARRIS, M.& ALBURY, D. (2009): The innovation imperative. NESTA, London, DOI:10.13007/121.

HOWALDT, J. & SCHWARZ, M. (2010): Social Innovation: Concepts, research fields and international trends, Sozialforschungsstelle Dortmund.

HUBERT, A. (2010): Empowering people, driving change: Social innovation in the European Union, Bureau of European Policy Advisors.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2006. Disponível em: https://censos.ibge.gov.br/agro/2017. Acesso em: 22 dez. 2019.

LOPES, I. D. (2018). Análise da operacionalização do programa nacional de alimentação escolar em escolas públicas de Passo Fundo/RS. Dissertação apresentada a Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. 151f.

MILLAN, R. y GORDON, S. Capital social: una lectura de tres perspectivas clásicas. *Rev. Mex. Sociol.* [online]. 2004, vol.66, n.4, pp.711-747. ISSN 2594-0651.

Moyano, E. (2008), "Capital social y acción colectiva en el sector agrario", Revista Española de Sociología, núm. 10, pp. 15-37.

MOSSELAER, F. (2016): Creative Industries: Social Innovation. Academy for creative industries, DOI:10.4337/9780857930705.00014.

MOULAERT, F.; MACCALLUM, D. & HILLIER, J. (2013): Social innovation: intuition, precept, concept. The International Handbook on Social Innovation: collective action, social learning and transdisciplinary research, 13, DOI:10.4337/9781849809986.00011.

MULGAN, G. (2006): “The process of social innovation”, Innovations: technology, governance, globalization,1(2),145-162, DOI:10.1162/itgg.2006.1.2.145.

NESTA, (2008): Social innovation: New approaches to transforming public services. Making Innovation Flouurish, London.

OCDE (2011): Fostering Innovation to Address Social Challenges. Workshop proceedings. OECD Innovation Strategy, DOI: 10.1016/j.techfore. 2015.08.011.

OOSTERLYNCK, S., KAZEPOV, Y., NOVY, A., COOLS, P., BARBERIS, E., WUKOVITSCH, F. & LEUBOLT, B. (2013): “The butterfly and the elephant: local social innovation, the welfare state and new poverty dynamics”, ImPRovE Methodological Paper, (13/02).

PAGANINI, Sérgio. 2010. “A implantação do PAA”. In: MDS. Fome Zero Uma História Brasileira. Brasília: Comunicação. 190.

PAZ, E. (2015): “Un paradigma emergente: la innovación social”,3CEmpresa,4(1),50-68.

PHILLS, J.A., DEIGLMEIER, K. & MILLER, D.T. (2008): “Rediscovering social innovation”, Stanford SocialInnovationReview,6(4),34-43.

POT, F & VAAS, F. (2008). “Social innovation, the new challenge for Europe”, international Journal of Productivity and Performance Manegement, 57(6),468 - 473, DOI:10.1108/17410400810893400.

PUTNAM, Robert D. (1993) – *Comunidade e Democracia – A experiência da Itália Moderna* – Editora da Fundação Getúlio Vargas, Rio de Janeiro.

RÜEDE, D. & LURTZ, K. (2012): “Mapping the various meanings of social innovation: Toward a differentiated understanding of an emerging concept”, EBS Business School Research Paper, 1203, DOI:10.2139/ssrn.2091039.

SALOM-CARRASCO, J., PITARCH-GARRIDO, M.D. & SALES-TEN, A. (2017): “Innovación social: estrategias urbanas en un contexto de cambio. El caso de la ciudad de Valencia”, CIRIEC-España, Revista de Economía Pública, Social y Cooperativa,91,31-58, DOI:10.7203/CIRIEC-E.91.10451.

SANCHES, A. et al. 2014. “Familiar y compras públicas: inovaciones en la agenda da segurança alimentícia e nutricional” Em: Salcedo S, Guzmán L, editores. Agricultura familiar en América Latina e Caribe: recomendaciones de política. Santiago: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 486.

SANCHÍS, J. R. & CAMPOS, V. (2008): “La innovación social en la empresa. El caso de las cooperativas y de las empresas de Economía Social en España”, Economía Industrial,368,187-196.

SUBIRATS, J. (2015): “Políticas urbanas e innovación social. Entre la coproducción y la nueva institucionalidad. Criterios de significatividad”. En: Subirats, J. & García Bernardos, A., Eds., Innovación social y políticas urbanas en España: experiencias significativas en las grandes ciudades,13-42.

TRICHES, Rozane Marcia. et al. (2013). “Aquisições públicas em Cabo Verde: desafios e potencialidades para o desenvolvimento rural”, Revista Angolana de Sociologia. 63-80.

WOOLCOCK, M., NARAYAN D. (2000). Social Capital: implication for development theory, research and policy. The World Bank Research Observer, 15, č. 2, s. 225–249.

WORLD ECONOMIC FORUM & SCHWAB FOUNDATION FOR SOCIAL ENTREPRENEURSHIP (2016): Social Innovation: A Guide to Achieving Corporate and Societal Value, Cologny/Geneva Switzerland.

YEPEZ, F (2017). La Estrategia Europea de Especialización Inteligente. Implicaciones para el Sistema Andaluz de Innovación. Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla.

YIN, R. K. (2001). Estudo de Caso - Planejamento e métodos. 2. ed. Porto Alegre: Bookman.

YIN, R. K. (2009). Estudo de Caso – Uma estratégia de pesquisa. São Paulo, Saraiva.

CAPÍTULO 7

COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE PASTAS COMERCIAIS CONTENDO MATÉRIAS-PRIMAS OLEAGINOSAS COM AS INFORMAÇÕES DA ROTULAGEM NUTRICIONAL

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 05/02/2021

Cecília Cassimiro Pereira
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - SC
http://lattes.cnpq.br/5377361582471232

Milena de Oliveira Dutra
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - SC
http://lattes.cnpq.br/2240142709771574

Maria Luiza Tonetto Silva
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - SC
http://lattes.cnpq.br/7676142549549698
https://orcid.org/0000-0002-5641-294X

Gustavo Puppi Simão
Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos – Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Florianópolis - SC
http://lattes.cnpq.br/4440925446462484

Samuel Milanez
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - SC
http://lattes.cnpq.br/6383108038974187

Maria Manuela Camino Feltes
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - SC
http://lattes.cnpq.br/0382558773540069
https://orcid.org/0000-0002-2561-0900

RESUMO: Considerando a recomendação da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o consumo de alimentos contendo gorduras insaturadas, inclusive durante a pandemia de COVID-19, bem como os esforços das agências governamentais brasileiras quanto à melhor qualidade nutricional de alimentos processados, é desejável a determinação da composição físico-química de produtos contendo oleaginosas. Estes dados permitem a avaliação das informações da rotulagem nutricional. Neste trabalho, a composição proximal, previamente obtida, de três pastas comerciais contendo noz pecã ou castanha-do-brasil, foi comparada com as informações das tabelas nutricionais do rótulo. A composição determinada por análise apresentou valores diferentes daqueles declarados na rotulagem nutricional. As pastas analisadas se enquadram nas recomendações nacionais e internacionais para a oferta de alimentos nutritivos. Este estudo demonstra a importância dos produtores em garantir a confiabilidade das informações disponibilizadas na rotulagem nutricional, garantindo a autonomia do consumidor quanto à escolha de produtos adequados às suas necessidades, inclusive em dietas restritivas.

PALAVRAS-CHAVE: Nozes, castanhas e derivados, Pasta vegetal, Rotulagem nutricional, COVID-19.

COMPARISON OF THE PHYSICOCHEMICAL COMPOSITION OF COMMERCIAL SPREADS CONTAINING OLEAGINOUS RAW MATERIALS WITH THE NUTRITIONAL LABELING INFORMATION

ABSTRACT: Considering the World Health Organization (WHO) recommendations for the consumption of foods containing unsaturated fats, including during the pandemic period of COVID-19, and, also, the efforts of the Brazilian government agencies to improve the nutritional quality of processed foods, it is desirable to determine the physicochemical composition of nuts products. These data allow the assessment of the information on the nutritional label. In this study, the proximate composition of three commercial spreads containing pecan or Brazil nut was compared with the nutritional information on their label. The composition determined by the physicochemical analysis showed different values than those declared on the nutritional label. The spreads fit in the national and international recommendations for offering nutritional foods. This study highlights the importance of the industry in ensuring the reliability of the nutritional information available on labels, allowing consumers autonomy for choosing suitable products according to their needs, including for restrictive diets.

KEYWORDS: Nuts and nuts products, Vegetable spread, Nutritional label, COVID-19.

1 | INTRODUÇÃO

A rotulagem nutricional serve como um veículo de comunicação entre consumidor e fabricante, e é considerada uma ferramenta importante no processo da educação nutricional e da autonomia do consumidor para a escolha de um produto (GONÇALVES, 2015; ALBUQUERQUE et al., 2016). No Brasil, a rotulagem nutricional para embalagens de alimentos e bebidas tornou-se obrigatória em regulamentação publicada em 2001, através da qual as informações de valor energético, carboidratos, proteínas, gorduras (totais, saturadas e *trans*), fibra alimentar e sódio, devem ser declaradas. A informação nutricional pode ser obtida através da análise físico-química das amostras, ou por meio de bancos de dados e tabelas de composição química recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005). Deve ser expressa por porção, incluindo a medida caseira correspondente, podendo, adicionalmente, ser expressa por 100g ou 100mL (BRASIL, 2003 a).

Em paralelo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou, em 2020, uma série de recomendações nutricionais para adultos durante o período de pandemia de COVID-19, visando manter o sistema imunológico fortalecido, e, portanto, contribuir para um menor risco de Doenças Crônicas e Infecciosas. Dentre as recomendações, encontra-se a redução no consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas e *trans*, como carnes gordurosas e margarina, bem como o aumento no consumo de alimentos ricos em gorduras insaturadas, como as oleaginosas (nozes e castanhas) (OMS, 2020). Ademais, a redução

dos níveis de gorduras saturadas e *trans* em alimentos processados, já vinha sendo uma das principais ações tomadas pelas agências governamentais brasileiras (BLOCK et al., 2017). Sendo assim, pastas elaboradas com matérias-primas oleaginosas, como a castanha-do-brasil e a noz pecã, se destacam como produtos inovadores, pois garantem ao consumidor um produto com características nutricionais atrativas, e que se adequam às atuais recomendações nutricionais nacionais e internacionais. Além disso, contemplam as necessidades de públicos específicos, como atletas, e, dependendo da composição, podem ser destinadas também a veganos, vegetarianos e indivíduos com restrição ao glúten (FREITAS e NAVES, 2010; LIMA et. al., 2016). São uma opção para a diversificação do consumo destas oleaginosas, oferecendo mais oportunidades de produção e renda para os produtores, inclusive ligados a cooperativas.

Sabendo, portanto, que a confiabilidade das informações declaradas na rotulagem nutricional deve ser assegurada, e tendo conhecimento do impacto que a composição nutricional tem sobre a saúde, torna-se desejável que tais produtos sejam caracterizados e avaliados. Desta forma, este trabalho teve como objetivo comparar os resultados da composição físico-química (umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibra alimentar, carboidratos) de três pastas comerciais à base de noz pecã ou castanha-do-brasil, previamente obtidos por meio de análise laboratorial, com as informações declaradas nas respectivas rotulagens nutricionais.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foram avaliadas três amostras de três marcas distintas, adquiridas no comércio de Florianópolis, SC. Os critérios para a escolha foram: a) ser produtor nacional; b) conter castanha-do-brasil e/ou noz pecã; c) conter pouco ou nenhum aditivo; e d) ser de fabricação recente (inferior a um mês).

A lista de ingredientes das amostras (codificadas como A, B e C) está apresentada no Quadro 1.

Marca	Lista de ingredientes
A	Açúcar de cana, castanha-do-brasil, leite em pó integral, oleína de palma, cacau em pó, óleo vegetal (girassol, palma e canola), emulsificante lecitina de soja.
B	Noz pecã.
C	Noz pecã, amêndoa, massa de cacau, polidextrose. Edulcorantes: eritritol e stevia.

Quadro 1 – Lista de ingredientes das três marcas comerciais de pastas à base de matérias-primas oleaginosas, com a respectiva validade.

2.2 Métodos

Inicialmente, é importante comentar que os dados da análise físico-química das amostras, apresentados no presente trabalho, já foram citados em uma publicação anterior da equipe (PEREIRA et al., 2019), e estão sendo utilizados, neste estudo, para fins de comparação com a informação presente na rotulagem nutricional dos produtos avaliados.

Os resultados da composição físico-química foram previamente determinados segundo a AOAC (2019), para a obtenção dos teores de umidade, por secagem em estufa até massa constante a 105 ºC; lipídios, por extração em aparelho de Goldfish com éter de petróleo, com prévia digestão ácida; proteínas, através da determinação do teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl (fator de conversão 5,46 para produtos com castanha-do-brasil, 5,30 para outros frutos oleaginosos); cinzas, mediante a carbonização de 5 g de amostra em chapa de aquecimento, seguido de incineração em mufla a 525 °C; e fibras solúveis e insolúveis, pelo método enzimático-gravimétrico. Carboidratos totais foram obtidos por diferença em relação aos valores encontrados nas demais análises. Para a obtenção do valor energético, foi realizada a multiplicação de 4 Kcal para cada grama de carboidrato e proteína, e de 9 Kcal para cada grama de lipídio contidos nas amostras. As análises foram realizadas em triplicata. Os valores foram expressos como média e desvio padrão, e apresentados em g/100g (PEREIRA et al., 2019).

A partir de tais dados, as informações da tabela nutricional, que estavam apresentadas por porção do produto (20 g) na rotulagem, seguindo as diretrizes da legislação vigente no Brasil para rotulagem nutricional, a saber: RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003, da ANVISA (BRASIL, 2003 a), foram calculados por 100 g de produto. Os resultados das análises físico-químicas foram então comparados com os valores já declarados na rotulagem nutricional das amostras.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados os dados da análise físico-química das amostras A, B e C, previamente obtidos no trabalho de Pereira et al (2019), a informação nutricional declarada nos respectivos rótulos, bem como a variação entre os dados de cada amostra.

Nutriente	Amostra A			Amostra B			Amostra C		
	Rótulo	**Análise[a]**	**Variação (%)**	**Rótulo**	**Análise[a]**	**Variação (%)**	**Rótulo**	**Análise[a]**	**Variação (%)**
Valor energético	538 Kcal = 2238 KJ	540 Kcal = 2259 KJ	+0,4	740 Kcal = 3096 KJ	705 Kcal = 2949 KJ	-4,7	550 Kcal = 2301 KJ	613 Kcal = 2564 KJ	+11,4
Umidade (g/100 g)	-	2,82 ± 0,66	-	-	1,33 ± 0,13	-	-	1,32 ± 0,15	-
Cinzas (g/100 g)	-	2,22 ± 0,00	-	-	1,54 ± 0,09	-	-	2,14 ± 0,03	-
Lipídios (g/100 g)	34	39,06 ± 0,45	+14,9	72	72,74 ± 1,08	+1,02	54,5	55,87 ± 1,01	+2,5
Proteínas (g/100 g)	6	8,18 ± 0,15	+36,3	9	7,28 ± 0,03	-19,1	13,5	11,11 ± 0,04	-17,7
Fibra alimentar (g/100 g)	0	9,61 ± 2,58	-	10	11,70 ± 0,82	+17	12	12,05 ± 1,42	+0,4
Carboidratos** (g/100 g)	49	38,39 ± 1,24	-21,65	14	5,37 ± 0,92	-61,6	24,5	16,46 ± 2,62	-32,8

* Média ± desvio padrão dos resultados das repetições da análise. ** Obtidos por diferença em relação aos demais nutrientes.

Tabela 1 – Composição físico-química (g por 100 g de produto) das pastas à base de matérias-primas oleaginosas, com base na informação declarada na tabela nutricional dos rótulos, nos resultados das análises físico-químicas*[a] (*n* = 3), e indicando a variação (em %) entre os valores obtidos por análise, em relação aos declarados na tabela nutricional. Resultados expressos em base úmida.

[a] Fonte: Pereira et al. (2019).

O valor energético da amostra A (contendo castanha-do-brasil, lecitina de soja e outros ingredientes), a partir dos resultados da análise físico-química, apresentou um valor próximo ao declarado na rotulagem nutricional. Já para as amostras B (contendo exclusivamente noz pecã), e principalmente C (contendo noz pecã, polidextrose e outros ingredientes), foi observada uma diferença maior. As pastas produzidas com oleaginosas são altamente energéticas, especialmente por apresentarem quantidades consideráveis de lipídios e proteínas. Sendo assim, as pastas se destacam como um alimento processado nutritivo (WAGENER; KERR, 2017).

Quanto ao teor de lipídios resultante da análise físico-química, foi observado que as amostras B (72,74 g/100 g) e C (55,87 g/100 g) apresentaram valores próximos aos declarados na rotulagem nutricional (72 e 54,5 g/100g, respectivamente). Já a amostra A apresentou uma maior diferença entre tais valores (39,06g e 34g/100g, respectivamente). O maior teor de lipídios observado nas amostras B e C é devido à presença de noz pecã, matéria-prima que, segundo a literatura, possui um teor de lipídios superior (66 e 70 g/100g) quando comparado com a castanha-do-brasil (61 e 62 g/100g) (Oro, 2007; Ferreira et al., 2009). Cabe comentar, ainda, que as pastas elaboradas com matérias-primas oleaginosas

são ricas em ácidos graxos insaturados, dentre eles o ácido oleico (ômega-9) e o ácido graxo essencial linoleico (ômega-6) (FIRESTONE, 2013). Ambos estão associados a melhores níveis de triacilgliceróis, reduzindo o colesterol total sanguíneo e o LDL, bem como aumentando o HDL.

O teor de proteínas das amostras B e C obtido experimentalmente (7,28 e 11,11 g/100g, respectivamente), foi inferior ao declarado na rotulagem nutricional (9 e 13,5 g/100g, respectivamente), enquanto o contrário foi observado na amostra A (8,18 g/100g determinado por análise, e 6g/100 g declarado no rótulo). Dentre as três amostras analisadas, as amostras A e C apresentaram maior teor de proteínas. Tais valores devem estar relacionados aos demais ingredientes destas formulações, como o leite em pó integral (presente na amostra A) e as amêndoas (presentes na amostra C), que, segundo a literatura, contêm valores apreciáveis de proteína (25,8 e 15,6 g/100g, respectivamente), influenciando significativamente na composição do produto final (FERREIRA et al., 2009; ROSOLEN et al., 2013). Dentre os nutrientes da dieta de um atleta, a proteína se torna imprescindível, viabilizando a ressíntese proteica intramuscular e a atenuação dos mecanismos proteolíticos que ocorrem durante as fases de recuperação pós-exercício (OLIVEIRA, 2018). Ademais, as combinações de diferentes fontes proteicas vegetais em uma dieta, podem proporcionar um valor nutricional equivalente à proteína animal. Estudos indicam que a suplementação proteica não se torna necessária para veganos e vegetarianos, quando ocorre uma boa ingestão de leguminosas, cereais integrais e oleaginosas. Sendo assim, as pastas também se tornam uma boa opção de consumo para este público (FLORES et al., 2017).

Os valores de fibra alimentar das amostras B e C determinados experimentalmente (11,7 e 12,05g/100g, respectivamente) foram próximos aos indicados no rótulo (10 e 12g/100g, respectivamente). Na amostra A, entretanto, foi constatada uma maior divergência (9,61 g/100g determinado por análise, e zero declarado no rótulo). Tal diferença pode estar associada à determinação da composição do produto por meio das informações nutricionais contidas em banco de dados (RODRIGUES et al., 2010). A amostra A apresentou o menor teor de fibras, possivelmente decorrente da quantidade de castanha-do-brasil presente em sua composição. Já as amostras B e C contam com a noz pecã como matéria-prima principal, que segundo a literatura, apresenta um considerável teor de fibras (13,44 g/100g) (POLMANN et al., 2018). Embora não sejam absorvidas pelo organismo, estudos recentes demonstram que a fibra alimentar tem sido aliada na terapia de doenças crônicas. Seu consumo também promove a manutenção da saúde da microbiota intestinal, que por sua vez, contribui para o aumento da imunidade (FARIAS et al., 2018). Neste contexto, as pastas se tornam uma boa opção de consumo, em especial se tratando de indivíduos com restrições ao glúten, uma vez que há uma constante necessidade de enriquecimento de fibras alimentares nos produtos destinados a este público (SAUERESSIG et al, 2016). Cabe ressaltar que a falta da informação sobre fibra alimentar no rótulo da amostra A pode

levar o consumidor a optar por outras marcas deste produto, que contenham este nutriente em sua composição.

Quanto ao teor de carboidratos, as amostras B e C apresentaram valor menor do que o declarado no rótulo das pastas. Uma vez que a determinação de carboidratos é realizada por meio do cálculo da diferença em relação aos valores encontrados nas análises dos demais nutrientes, suas variações podem ter causado um efeito cumulativo sobre o resultado do teor de carboidratos.

Observando, portanto, que a composição nutricional determinada por análise físico-química apresentou valores diferentes daqueles declarados na rotulagem nutricional, ressalta-se a importância da indústria em se adequar à legislação vigente, que admite apenas uma variação de mais ou menos 20% quanto à informação nutricional declarada (BRASIL, 2003 b). Desta forma, pode-se garantir a confiabilidade das informações disponibilizadas, e permitir que os consumidores utilizem os rótulos como ferramenta de apoio em suas escolhas alimentares, inclusive no que diz respeito a dietas restritivas, seguidas por opção ou por necessidade.

Além das variações de composição nutricional encontradas no presente trabalho, cabe ressaltar que as normas de rotulagem nutricional, no Brasil, vêm sofrendo um processo de revisão nos últimos anos, com o objetivo de garantir maior clareza e qualidade nas informações nutricionais dos produtos comercializados no país (BRASIL, 2020). Segundo o estudo realizado por Morais et al. (2020), embora a maioria dos consumidores tenha o hábito de utilizar a rotulagem nutricional dos alimentos, muitos têm dificuldade em compreender suas informações e conceitos básicos. Sendo assim, tal revisão da legislação se torna importante para os consumidores.

4 | CONCLUSÕES

A composição nutricional determinada por meio de análise físico-química apresentou valores diferentes daqueles declarados na rotulagem nutricional das pastas, sendo que alguns resultados excederam a faixa de variação de mais ou menos 20% quanto à informação nutricional declarada no rótulo, determinada pela legislação brasileira vigente. Isto pode ser justificado pelo método de determinação da composição do produto, uma vez que a regulamentação nacional permite que os dados sejam obtidos tanto por análises físico-químicas, quanto por cálculos realizados por meio de consulta em banco de dados.

As pastas comerciais apresentaram os lipídios como nutriente majoritário, o que pode ser atribuído especialmente à presença de noz pecã ou castanha-do-brasil em sua formulação. Também apresentam teores apreciáveis de proteína e fibras alimentares, o que as torna atrativas para públicos específicos como atletas, além de veganos, vegetarianos e indivíduos com restrição ao glúten, desde que a formulação seja adequada para tais consumidores. As matérias-primas oleaginosas presentes nas pastas avaliadas permitem,

ainda, que as mesmas se enquadrem nos atuais esforços das agências governamentais brasileiras, bem como nas recomendações nutricionais internacionais para adultos, especialmente durante o período de pandemia do COVID-19, para aumentar o consumo de ácidos graxos insaturados provenientes de nozes e castanhas.

Sendo assim, é importante que a indústria busque garantir a confiabilidade das informações disponibilizadas na rotulagem nutricional. Espera-se que as novas normas de rotulagem nutricional, ao entrarem em vigor, permitam a autonomia do consumidor quanto à escolha dos produtos para inclusão em uma dieta equilibrada. Este estudo também viabilizou a compreensão dos parâmetros de qualidade nutricional de acordo com a formulação das pastas, e que têm relação direta com a saúde do consumidor.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e SESCOOP pelo apoio financeiro (Processo n. 403195/2018-7). À CAPES e ao CNPq pelas bolsas concedidas para M.L.T. Silva (Processo n. 88882.344949/2019-01) e G.P. Simão (Processo n. 180067/2019-2), respectivamente.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, G. L. B. de; SILVA, E. B. da; RODRIGUES, N.; CARDOSO, F. T. Avaliação da adequação da rotulagem de fórmulas infantis para lactentes. **O mundo da saúde**, v.40, n.4, p.481-489. 2016.

ANVISA, Ministério da Saúde/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Gerência Geral de Alimentos. **Rotulagem Nutricional Obrigatória**. Manual de orientação às indústrias de alimentos. Brasília, p.44, 2005.

AOAC, Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the AOAC**. 2019.

BLOCK, J. M.; ARISSETO-BRAGOTTO, A. P.; FELTES, M. M. C. Current policies in Brazil for ensuring nutritional quality. **Food Quality and Safety**, v.1, n.4, p.275-288, 2017.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional em Alimentos Embalados** (Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003). Diário Oficial da União. 2003a.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional em Alimentos Embalados** (Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003). Diário Oficial da União. 2003b.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. (2020). **Rotulagem de alimentos**. 2020. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/rotulagem-de-alimentos. Acesso em: 28 jul. 2020.

FARIAS, J. T. F.; NETA, M. L. P. M.; ARAÚJO, J. M. D. de; ARRUDA, L. C. S. de; PONTES, E. D. S. Efeitos e benefícios da ingestão de fibras alimentares na prevenção de doenças crônicas: uma revisão de literatura. **International Journal of Nutrology,** v.11, n.1, p.358, 2018.

FERREIRA, E. D. S.; SILVEIRA, C. D. S.; LUCIEN, V. G.; AMARAL, A. S. Caracterização físico-química da amêndoa, torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* HBK). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.17, n.2, p.203-208, 2009.

FIRESTONE, D. **Physical and Chemical Characteristics of Oil, Fats, and Waxes**. 3rd ed. Urbana: AOCS. 2013.

FLORES, F. T.; ORDOÑEZ, F. M.; RUBIO, E. P.; SÁNCHEZ-OLIVER, A. J. Dieta vegetariana y rendimiento deportivo. **EmásF: revista digital de educación física**, n.46, p.27-38. 2017.

FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, v.23, n.2, p.269-279, 2010.

GONÇALVES, N. A. Rotulagem de alimentos e consumidor. **Nutrição Brasil**, v.14, n.4, 2015.

LIMA, P. F.; COSTA, V. da S.; LEMOS, T. de O.; NASCIMENTO, A. M. do C. B.; RODRIGUES, M. do C. P. Caracterização sensorial de pasta de amendoim adicionada de quinoa. **Encontros Universitários da UFC**, Fortaleza, Brasil, 2016.

MORAIS, A. C. B.; STANGARLIN-FIORI, L.; BERTIN, R. L.; MEDEIROS, C. O. Conhecimento e uso de rótulos nutricionais por consumidores. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v.15, n.45847, 2020.

OLIVEIRA, L. S. D. S. **Consumo proteico por praticantes de exercícios físicos.** 2018. (TCC de Graduação). Universidade Federal de Pernambuco, Vitória, 2018.

OMS, Organização Mundial da Saúde. (2020). **Nutrition for adults during COVID-19**. Disponível em: http://www.emro.who.int/noncommunicable-diseases/campaigns/nutrition-for-adults-during-covid-19.html. Acesso em: 28 jul. 2020.

ORO, T. **Composição nutricional, compostos bioativos e vida útil de noz e óleo extra-virgem de noz-pecã [*Carya illinoinensis* (Wangenh.) K. Koch]**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

PEREIRA, C. C.; SILVA, M. L. T.; DUTRA, M. de O.; SIMÃO, G. P.; MILANEZ, S.; FELTES, M. M. C. Caracterização físico-química e física de pastas comerciais contendo matérias-primas oleaginosas. **In XII Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar (MICTI)**, Brusque, Brasil, 2019.

POLMANN, G.; BLOCK, J. M.; KAZAMA, D. C. S.; FELTES, M. M. C. Determinação da composição nutricional de noz pecã e do teor de fibra bruta por meio de diferentes m**étodos** de preparo da amostra. **6° Simpósio de Segurança Alimentar**, Gramado, Brasil, 2018.

RODRIGUES, H. F.; SILVA, L. F. M. D.; FERREIRA, K. S.; NOGUEIRA, F. D. S. Avaliação de rotulagem nutricional, composição centesimal e teores de sódio e potássio em batatas-palha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v.69, n.3, p.423-427, 2010.

ROSOLEN, M. D.; RAPHAELLI, C. D. O.; OLIVEIRA, M. de. Contribuição nutricional de leite e seus derivados na dieta dos brasileiros. **Encontro de Pós Graduação da UFPEL**, Pelotas, Brasil, 2013.

SAUERESSIG, A. L. C.; KAMINSKI, T. A.; ESCOBAR, T. D. Inclusão de fibra alimentar em pães isentos de glúten. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.19, n.1, p.1-8, 2016.

WAGENER, R.S.; KERR, W.L. Effects of oil content on the sensory, textural, and physical properties of pecan butter (*Carya illinoinensis*). **Journal of Texture Studies**, v.49, p.286-292, 2017.

CAPÍTULO 8

COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ANTOCIANINAS TOTAIS DE CULTIVARES HÍBRIDAS DE UVAS *SWEET SAPPHIRE*, *SWEET SURPRISE* E *SWEET JUBILEE*

Data de aceite: 03/05/2021

Marta Angela de Almeida Sousa Cruz
Núcleo de Alimentos Funcionais, Escola de nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Gabriela de Freitas Laiber Pascoal
Núcleo de Alimentos Funcionais, Escola de nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Lauriza Silva dos Santos
Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Larissa Gabrielly Barbosa Lima
Núcleo de Alimentos Funcionais, Escola de nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Maria Eduarda de Souza Jacintho
Núcleo de Alimentos Funcionais, Escola de nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Anderson Junger Teodoro
Núcleo de Alimentos Funcionais, Escola de nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

RESUMO: A uva é uma fruta amplamente cultivada e consumida em todo o mundo. Possui vários efeitos benéficos sobre a saúde humana, sendo de grande importância econômica para a população. Embora no Brasil, a prática da viticultura seja recente quando comparada aos países europeus tradicionais, existem melhorias de qualidade da composição das cultivares de uva brasileiras através de técnicas de hibridização. O presente estudo comparou a atividade antioxidante das uvas híbridas *Sweet sapphire* (SP), *Sweet surprise* (SU) e *Sweet jubilee* (JB), que foi avaliada pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP e ORAC. O teor total de compostos fenólicos totais foi analisado pelo método de Folin-Ciocalteu. O extrato de *Sweet jubilee* apresentou maior capacidade antioxidante, em fenólicos totais, mas demonstrou menor quantidade de antocianinas totais que foi maior para variedade *Sweet sapphire*. Em contrapartida, a *Sweet surprise* demonstrou maior potencial oxidante pelo método ABTS. Mesmo em diferentes concentrações, com comportamentos variados nos diferentes métodos, as três variedades analisadas demonstraram alto potencial bioativo para o uso eficiente de compostos antioxidantes na prevenção de patologias.

PALAVRAS-CHAVE: Uva híbrida, antioxidante, *Vitis vinifera*.

COMPARISON OF ANTIOXIDANT ACTIVITY, TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS AND TOTAL ANTHOCYANINS OF HYBRID CULTIVARS *SWEET SAPPHIRE, SWEET SURPRIS* AND *SWEET JUBILEE* GRAPES

ABSTRACT: Grape is a fruit widely cultivated and consumed all over the world. It has several beneficial effects on human health, being of great economic importance for the population. Although in Brazil, viticulture practice is recent when compared to traditional European countries, there are improvements in the quality of the composition of Brazilian grape cultivars through hybridization techniques. The present study compared the antioxidant activity of hybrid grapes *Sweet sapphire* (SP), *Sweet surprise* (SU) e *Sweet jubilee* (JB). The antioxidant capacity of these samples was evaluated using the DPPH, ABTS, FRAP and ORAC methods. Total phenolic compounds were analyzed by Folin-Ciocalteu. *Sweet jubilee* extract showed higher antioxidant capacity in total phenolics, but showed lower amount of total anthocyanins, which was higher for *sweet sapphire* variety. On the other hand, *Sweet surprise* demonstrated greater oxidizing potential by the ABTS method. Even in different concentrations, with varied behaviors in the different methods, the three varieties analyzed demonstrated high bioactive potential for the efficient use of antioxidant compounds in the prevention of pathologies.
KEYWORDS: Hybrid grape, antioxidant, *Vitis vinifera*.

INTRODUÇÃO

A uva é uma fruta do tipo baga mais cultivada no mundo, assim como uma das mais consumidas de forma *in natura*. No Brasil sua produção é crescente e têm tido importância destacada para o agronegócio, principalmente na região do Vale de São Francisco, localizada no Nordeste do Brasil, onde há cultivo de uvas híbridas. Seu plantio é destinado sobretudo para o mercado de vinhos e sucos, e para o consumo *in natura* (uva de mesa) (GUTIÉRREZ-GAMBOA et al, 2020).

As uvas híbridas são geradas por meio do cruzamento de duas ou mais espécies de *Vitis*, que permitem a seleção de características de interesse, como elevada resistência a doenças e pragas. São caracterizados por diferentes composições químicas e são especialmente conhecidos por apresentarem alto conteúdo de compostos fenólicos, especialmente as antocianinas, são compostos que promovem benefícios à saúde humana e contribuem para a qualidade da fruta (SAMOTICHA, et al., 2017).

Os compostos fenólicos são os metabólitos secundários mais importantes nas uvas, exercem funções antioxidantes e podem ser encontrados na casca, polpa e sementes. Estão presentes nesta classe de compostos os flavonóides (antocianinas, flavonóis e flavonóis), os ácidos fenólicos e os estilbenos, estes compostos protegem a fruta e, após a ingestão, ajudam a combater radicais em células e tecidos humanos (PÁDUA et al., 2020; SAMOTICHA; WOJDYŁO; GOLIS, 2016).

Em uvas escuras, as antocianinas estabelecem a maior porcentagem de compostos fenólicos, pois são responsáveis pela coloração característica das uvas e apresentam diversos efeitos para o ser humano, uma vez que são antidiabéticos, anticâncer, anti-

inflamatórios, antimicrobianos e antiobesidade, além de atuarem na prevenção de doenças cardiovasculares (KHOO et al., 2017; MOREIRA et al., 2017).

Considerando o pequeno número de estudos em relação às uvas híbridas e a importância dos compostos fenólicos, especialmente das antocianinas presentes nessa fruta, este trabalho tem objetivo avaliar a quantidade de compostos fenólicos totais e a quantidade antocianinas presentes em três uvas híbridas, *Sweet Surprise*, *Sweet Sapphire* e *Sweet jubilee*.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria prima

Amostras das uvas *Sweet sapphire* (SP), *Sweet surprise* (SU) e *Sweet jubilee* (JB) foram doadas pela Fazenda Labrunier localizada em Petrolina (Pernambuco, Brasil) e transportada sob refrigeração ao Núcleo de Bioquímica Nutricional da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.



Figura 1. Uva *Sweet sapphire*, *Sweet surprise* e *Sweet jubilee,* respectivamente.

Obtenção dos extratos de uva

As amostras foram extraídas por meio de 2 soluções extratoras: acetona 70% (acetona: água) (ACE) e água (EA). Foram homogeneizadas por 10 minutos e após a diluição com as soluções, elas foram submetidas a banho de ultrassom por 30 minutos e a centrifugação por 5 minutos a 5000 rpm em seguida o extrato obtido foi filtrado.

Determinação de compostos fenólicos totais

A análise de fenólicos totais foi realizada com o ensaio de Folin Ciocalteu.As alíquotas diferentes foram pipetadas e ficaram ao abrigo da luz por duas horas e após esse período, foi realizada leitura em espectrofotômetro com absorbância de 750nm. Os

resultados foram comparados com a reação do padrão ácido gálico e expresso em mg de ácido gálico (AGE)/100g de amostra (SAEED et al, 2012).

Avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH

A medida da atividade sequestrante do radical DPPH foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams & Berset (1995). Para avaliação da atividade antioxidante, as amostras em três concentrações em triplicata foram adicionadas para reação com o radical estável DPPH em uma solução de metanol. A redução do radical do DPPH foi medida através da leitura da absorbância a 515 nm em 30 min de reação. Foi utilizado padrão de trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) e a atividade antioxidante foi expressa em μmol de trolox por grama de amostra.

Análise determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do Ferro (FRAP)

A atividade antioxidante pelo método de FRAP foi determinada de acordo com Rufino *et al.* (2006). Este método baseia-se na quantificação da capacidade de redução do complexo Fe (III)-TPTZ (cor azul clara) para o complexo Fe (II)-TPTZ (cor azul escura) em meio ácido, reação esta que é desencadeada pelo antioxidante presente na amostra. O método consiste em adicionar a 100 μL da amostra e quantificar, em 2,7mL de reagente FRAP somado a 270μL de água destilada. Após 30 minutos em banho-maria foi efetuada a leitura de absorbância a 595 nm. A curva padrão foi produzida com uma solução de sulfato ferroso com quatro diluições diferentes. Os resultados foram expressos em μM de sulfato ferroso por grama de amostra.

Análise de atividade antioxidante total pela captura do radical ABTS•+

O método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico) foi utilizado como descrito por Rufino *et al.* (2007), O radical $ABTS^{\cdot+}$ é formado por uma reação química com persulfato de potássio. Então, o radical $ABTS^{\cdot+}$ é diluído em etanol até obter uma medida de absorbância de 0,70 (± 0,02) a um comprimento de onda de 734 nm. Alíquotas com três diferentes volumes em triplicata das amostras reagiram com o radical $ABTS^{\cdot+}$ por 6 min. Uma curva padrão com soluções de Trolox e a atividade antioxidante foi expressa em μmol equivalente de trolox por grama de amostra.

Ensaio ORAC

Este método, mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peroxil que foram gerados por uma fonte radicalar, AAPH (2,2`-azobis(2-amidinopropano) dihidroclorado), a 37ºC. O radical peroxil, gerado pela reação do com oxigênio atmosférico, reage com a fluoresceína para formar um produto não fluorescente, que pode ser medido por espectrofotometria com máxima emissão de fluorescência em 575 nm e 578 nm. Concentrações conhecidas de trolox foram usadas para gerar uma curva padrão. A atividade

antioxidante das substâncias foi determinada através da diferença entre a área abaixo da curva (AUC) da amostra subtraída pela AUC do branco, medida pelo decaimento da fluorescência com a adição da substância antioxidante no decorrer do tempo. Este ensaio expressa o resultado em μmol de trolox equivalentes.

Identificação e quantificação de antocianinas

As amostras integrais foram pesadas (1 g) para extração com metanol e solução de ácido fórmico no banho de ultrassom com posterior centrifugação até a descoloração da solução. Em seguida, uma alíquota (1 mL) do extrato foi seca com ar comprimido, sendo a mesma ressuspensa em metanol e ácido fórmico e aplicada em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) (Alliance 2695, Waters) equipado com detector de arranjo de fotodiodos e uma coluna C18 BDS (100 mm x 4,6 mm, 2,4 µm, ThermoScientific) em gradiente de eluição com acetonitrila e ácido fórmico. A quantificação de antocianinas foi feita por padronização externa, a partir de padrões isolados. Os resultados foram expressos em mg / 100 g (ALVES et al., 2007).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada em Excel e no Programa Graph PadPrism 5.0. Foi feito o teste de variância (ANOVA) com pós-teste de Tukey para comparação de médias, ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise da atividade antioxidante por diferentes métodos, a solução extratora acetona 70% apresentou maior potencial de extração para as variedades de uvas analisadas (Figura 2).

Como resultado do DPPH (Figura 2A), as três variedades de uvas híbridas apresentaram melhor atividade antioxidante em extrato cetônico. Dados da literatura sobre uvas shiraz nas regiões de Pune e Nasik apresentaram valores próximos a 114,72 ± 11,65 µmol TEAC/g DW e 108,27 ± 11 µmol TEAC/g DW, respectivamente, valores estes muito semelhantes aos encontrados em nosso trabalho (SAVALEKAR et al., 2019). Outro estudo apresentou um valor de 410,79 µmol TEAC/g para casca de uvas Grenache (KY & TEISSEDRE, 2015). Em contraste, a casca de uva híbrida mostrou valores em torno de 17 µmol TEAC/g de peso fresco para as variedades Uslo e Isabella (YILMAZ et al., 2015). Na análise pelo método de DPPH, o extrato de SU apresentou a maior capacidade antioxidante, seguido pelas variedades JB e de SP.

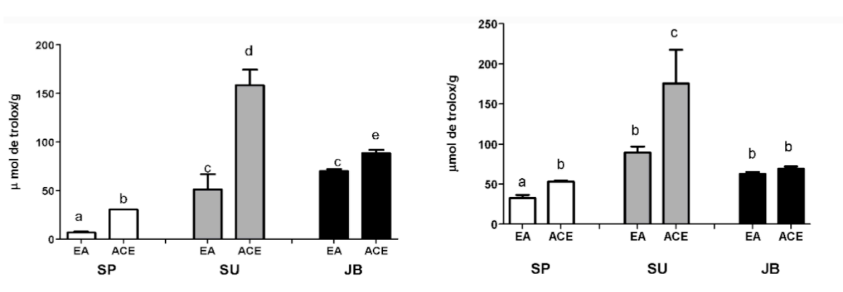
Na análise de ABTS, os valores de capacidade antioxidante entre as diferentes variedades foram semelhantes, não havendo diferença estatística significativa ($p>0,05$), com exceção do extrato acetônico da variedade SU que, com valor médio próximo a 190

µmol de peso fresco TEAC/g apresentou maior potencial antioxidante (p<0,05) que as demais (Figura 2B). Os valores obtidos neste estudo são superiores quando comparados ao estudo de Favati et al. (2020) que utilizando bagaço de uva (4,40 ± 0,15 µmol TEAC/g) e variedade de uva híbrida Uslo (4,78 µmol TEAC/g de peso fresco). Em outro estudo, Yilmaz et al (2015) obtiveram um valor de 4,75 µmol TEAC/g de peso fresco da variedade Alfons também inferiores aos valores obtidos neste estudo.

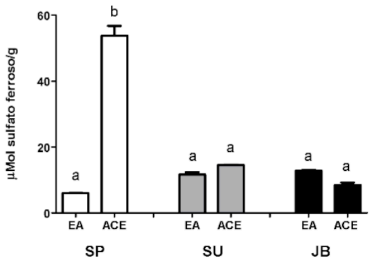
Na análise pelo método de FRAP, as variedades JB e SU apresentaram menor (p<0,05) capacidade antioxidante quando comparadas a variedade SP, sem diferença estatística entre ambas (p>0,05). Foi ainda possível observar que não houve diferença estatística entre os extratores utilizados (p>0,05) entre as variedades analisadas, com exceção da variedade SP utilizando o extrato cetônico (Figura 2C) que apresentou capacidade antioxidante cinco vezes maior quando comparado ao extrato aquoso. Ky & Teissedre (2015) produziram dados próximos a 1,52 mM sulfato ferros/g peso seco para extrato de casca de Syrah.

Na análise ORAC, a variedade JB demonstrou maior atividade oxidante, seguida das variedades SP e SU (Figura 2D). No método direto ORAC, a uva Muscadine (*Vitis rotundifolia*) apresentou resultado de 129,06 ± 1,97 µmol ET/ g no trabalho de You (2012) valores estes semelhantes com nossos resultados. Não houve diferença significativa entre os extratos de SP e SU (p>0,05). Em comparação com outros estudos, foram encontrados valores próximos a 25 µmol de Trolox eq./g em suco de uva (FARIA et al, 2016) e 62,75 µmol de Trolox eq./g no extrato de uva Syrah (DE CAMARGO et al., 2019).

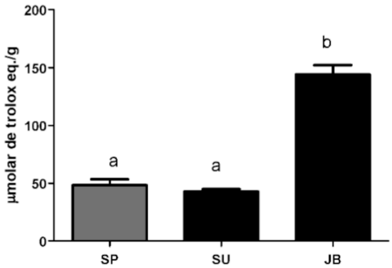
As soluções utilizadas nesses estudos possuem diferentes polaridades demonstrando a presença de compostos hidrofílicos e lipofílicos com características diferentes dependendo da fração e tipo de fruta analisada. Assim, observa-se que essa variedade tem grande potencial como fonte de compostos antioxidantes, principalmente a partir da casca, parte que geralmente é consumida.



(A) (B)



(C)



(D)

Figura 2. Atividade antioxidante dos extratos aquosos (EA) e cetônicos (ACE) de polpa de uvas híbridas *Sweet sapphire* (SP), *Sweet surprise* (SU) e *Sweet jubilee* (JB) pelos métodos de DPPH (A), ABTS (B), FRAP (C) and ORAC (D). Letras diferentes na mesma figura apresentam diferença significativa ($p<0,05$).

Na análise de determinação de compostos fenólicos totais, a variedade JB obteve maiores valores, seguida da SP e SU (Figura 3). Em estudo com cultivares de uva Niágara rosada, os autores quantificaram valores aproximados ao deste estudo (SOARES et al, 2008).

O valor encontrado na espécie JB evidencia valores semelhantes aos encontrados na literatura, inclusive ao comparar com outras uvas híbridas avaliadas por Samoticha e colaboradores (2017), que estudaram 28 uvas híbridas brancas e vermelhas com resultados de compostos fenólicos. O conteúdo dos compostos fenólicos tem vários fatores determinantes, como condições ambientais e de cultivo, grau de maturidade e nas uvas mais escuras se tem o aumento desses compostos no último estágio de maturação. Sendo assim, observa-se um grande potencial dessa variedade como fonte de compostos antioxidantes.

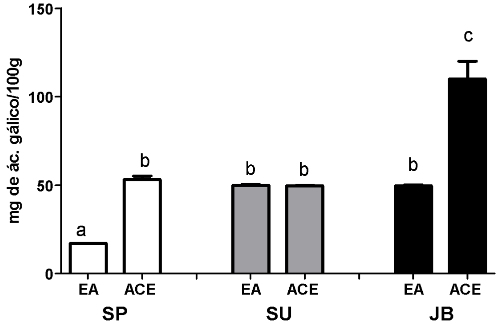


Figura 3. Compostos fenólicos totais dos extratos aquosos (EA) e cetônicos (ACE) de polpa de uvas híbridas *Sweet sapphire* (SP), *Sweet surprise* (SU) e *Sweet jubilee* (JB). Letras diferentes no mesmo gráfico apresentam diferença significativa ($p<0,05$).

Entre os compostos fenólicos presentes nas uvas, os principais encontrados são antocianinas, sendo que em uvas de *V. vinifera L.* apresenta cinco agliconas que ocorrem comumente, entre elas, a cianidina, peonidina, delfiinidina, petunidina e malvidina (ABE et al., 2007). As antocianinas estão localizadas na casca da fruta e são os compostos responsáveis principalmente pela cor vermelha das uvas e vinhos (LINGUA et al., 2016).

Os resultados mostram que os derivados de malvidina apresentam o maior teor em ambas as cultivares. Neste estudo foram quantificados valores de 14,46 mg/100 g de malvidina 3-O-glicosideo na variedade SP, 9,70 mg/100g na JB e 2,76 mg/100 g em SU, sendo estes semelhantes ao encontrado por outros autores (BALÍK et al, 2013; FIGUEIREDO-GONZALEZ et al., 2012). As antocianianas formadas a partir da cianidina apresentaram a menor concentração na varidade JB com valor de 0,20 mg/100g, fato que provavelmente ocorre, pois esta antocianina é a precursora de todas as outras durante o processo de maturação (NÚÑEZ et al, 2004). Na variedade SU, a peonidina-3-O-glicosideo foi a antocianina que apresentou a menor concentração (0,77 mg/100g). A amostra da variedade SP apresentou elevados valores de antocianinas totais (23,04 mg/100g) em comparação com a amostra de JB (12,98 mg/100g) e de SU (9,43 mg/100 g) (Tabela 1).

Na análise de antocianinas totais dos extratos das variedades híbridas observamos maiores valores presentes na *Sweet sapphire* (SP), em comparação com as outras duas variedades (Tabela 1).

Antocianinas (mg/100g)	SP	SU	JB
Delfinidina-3-O-glicosideo	1,98	1,22	0,15
Cianidina-3-O-glicosideo	0,63	1,09	0,20
Peonidina-3-O-glicosideo	3,77	0,77	2,47
Petunidina-3-O-glicosideo	2,2	ND	0,46
Malvidina-3-O-glicosideo	14,46	2,76	9,70

ND- não detectável

Tabela 1. Antocianinas totais dos extratos aquosos (EA) de polpa de uvas híbridas *Sweet sapphire* (SP), *Sweet surprise* (SU) e *Sweet jubilee* (JB)

CONCLUSÃO

Este trabalho apresenta o comparativo entre a concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante de variedades híbridas de *Vitis vinifera L.* (*Sweet safira, Sweet surprise e Sweet jubilee*).

Os ensaios de DPPH, ABTS, FRAP e ORAC revelaram que o extrato de acetona 70% apresentou maior capacidade de extração dos compostos antioxidantes para todas as variedades híbridas, independentemente do método utilizado, no entanto, cada variedade

híbrida apresentou quantidades variáveis de acordo com o método aplicado. A variedade SU destacou-se nos métodos DPPH e ABTS, enquanto que a JB nos métodos ORAC e fenólicos totais; e a variedade SP nos métodos FRAP e antocianinas totais.

Ressalta-se, porém, que mesmo em diferentes valores comparativos, as três espécies híbridas apresentaram um alto potencial bioativo, sendo o seu consumo indicado para o uso eficiente de compostos antioxidantes na prevenção de patologias.

Devido a poucos estudos com uvas híbridas, acreditamos que esse trabalho contribuirá para orientar novos estudos e avaliar seu potencial econômico como fonte natural de alimento da região Nordeste do Brasil. Este trabalho destaca a concentração significativamente alta de compostos fenólicos e propriedades antioxidantes das variedades híbrida *Vitis vinifera L*. SP, SU e JB.

REFERÊNCIAS

ABE, L.T.; DA MOTA, R.V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas Vitis labrusca L. e Vitis vinífera L. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.27 n. (2) p. 394-400,2007

BALÍK, J., KUMŠTA, M., & ROP, O. (2013). Comparison of anthocyanins present in grapes of L. varieties and interspecific hybrids grown in the Czech Republic. **Chemical Papers,** *67*(10), 1285–1292. https://doi.org/10.2478/s11696-013-0378-9

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., & BERSET, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - **Food Science and Technology**, 28(1), 25–30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

BURIN, V. M., FERREIRA-LIMA, N. E., PANCERI, C. P., & BORDIGNON-LUIZ, M. T. (2014). Bioactive compounds and antioxidant activity of Vitis vinifera and Vitis labrusca grapes: Evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal**, 114, 155–163. https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.12.014

DE CAMARGO, A. C., BIASOTO, A. C. T., SCHWEMBER, A. R., GRANATO, D., RASERA, G. B., FRANCHIN, M., … SHAHIDI, F. (2019). Should we ban total phenolics and antioxidant screening methods? The link between antioxidant potential and activation of NF-κB using phenolic compounds from grape by-products. **Food Chemistry**, *290*, 229–238. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.145

FARIA, S. B. A., ROSSE, V., DIAS, J. F., MOREIRA XAVIER, N., & AZEREDO, V. B. (2016). Effect of grape juice consumption on antioxidant activity and interleukin-6 concentration in lactating rats. **Nutrición Hospitalaria**, *33*(6), 1418–1423. https://doi.org/10.20960/nh.804

FAVATI, F., PASINI, G., VIGNALE, F., TOLVE, R., & SIMONATO, B. (2020). foods E ff ect of the Refining Process on Total Hydroxytyrosol , 1–11.

FIGUEIREDO-GONZALEZ, M., MARTÍNEZ-CARBALLO, E., CANCHO-GRANDE, B., SANTIAGO, J. L., MARTÍNEZ, M. C., & SIMAL-GÁNDARA, J. (2012). Pattern recognition of three Vitis vinifera L. red grapes varieties based on anthocyanin and flavonol profiles, with correlations between their biosynthesis pathways. **Food Chemistry**, *130*(1), 9–19. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.006

GUTIÉRREZ-GAMBOA, G., LIU, S. Y., & PSZCZÓLKOWSKI, P. (2020). Resurgence of minority and autochthonous grapevine varieties in South America: a review of their oenological potential. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 100(2), 465–482. https://doi.org/10.1002/jsfa.10003

KHOO, H. E. et al. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food and Nutrition Research**, [s.l.], v. 61, nº 1, 2017. ISSN: 16546628, DOI: 10.1080/16546628.2017.1361779.

KY, I., & TEISSEDRE, P. L. (2015). Characterisation of Mediterranean grape pomace seed and skin extracts: Polyphenolic content and antioxidant activity. **Molecules**, *20*(2), 2190–2207. https://doi.org/10.3390/molecules20022190

LINGUA, M. S., FABANI, M. P., WUNDERLIN, D. A., & BARONI, M. V. (2016). From grape to wine: Changes in phenolic composition and its influence on antioxidant activity. **Food Chemistry,** *208*, 228–238. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.009

LVES, R. I. E. L. A., ARKEET, C. O. C., LEVIDENCE, B. E. A. C., & OVOTNY, J. A. A. N. (2007). Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru, 9389–9394.

MELLO, L. M. R. De; MACHADO, C. A. E. **Vitivinicultura brasileira : Panorama 2009**. [s.l.], p. 15–18, 2020.

MOREIRA, G. C. R. C. et al. Conteúdo de minerais, compostos fenólicos e antocianinas em farinhas de bagaço de uva das variedades Seibele Bordô provenientes de uma vinícola sul-paranaense. **Nutrição Brasil**, [s.l.], v. 53, nº 9, p. 1689–1699, 2017. ISBN: 9788578110796, ISSN: 1098-6596.

NÚÑEZ, V., MONAGAS, M., GOMEZ-CORDOVÉS, M. C., & BARTOLOMÉ, B. (2004). Vitis vinifera L. cv. Graciano grapes characterized by its anthocyanin profile. **Postharvest Biology and Technology**, *31*(1), 69–79. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00140-6

PÁDUA, D. R. de L. et al. Estudo do perfil de compostos bioativos da cultivar de uva Isabel precoce (Vitis labrusca l) cultivado no cerrado brasileira. **Research, Society and Development**, [s.l.], v. 9, nº 7, p. 1689–1699, 2020. ISBN: 9788578110796, ISSN: 2525-3409, DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4217.

ROCHA, W. S., LOPES, R. M., SILVA, D. B., VIEIRA, R. F. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Rev. Bras. Frutic**., Jaboticabal - SP, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011, https://www.scielo.br/pdf/rbf/v33n4/v33n4a21

SAMOTICHA, J.; WOJDYŁO, A.; GOLIS, T. Phenolic composition, physicochemical properties and antioxidant activity of interspecific hybrids of grapes growing in Poland. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 215, p. 263–273, 2016. ISSN: 18737072, DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.07.147.

SAEED, N., KHAN, M. R., & SHABBIR, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts Torilis leptophylla L. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, *12*(1), 1174. https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-221

SAVALEKAR, K., AHAMMED SHABEER, T. P., KHAN, Z., OULKAR, D., JAIN, P., PATIL, C., & BANERJEE, K. (2019). Targeted phenolic profiling of Sauvignon blanc and Shiraz grapes grown in two regions of India by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Food Science and Technology**, *56*(7), 3300–3312. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03802-w

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. (2008). Compostos Fenólicos E Atividade Antioxidante Da Casca De Uvas Niágara E Isabel. **Rev. Bras. Frutic**, *30*(1), 59–64. https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000100013

YILMAZ, Y., GÖKSEL, Z., ERDOĞAN, S. S., ÖZTÜRK, A., ATAK, A., & ÖZER, C. (2015). Antioxidant Activity and Phenolic Content of Seed, Skin and Pulp Parts of 22 Grape (Vitis viniferaL.) Cultivars (4 Common and 18 Registered or Candidate for Registration). **Journal of Food Processing and Preservation**, *39*, 1682–1691. https://doi.org/10.1111/jfpp.12399

YOU, Q., CHEN, F., WANG, X., SHARP, J. L., & YOU, Y. (2012). Analysis of Phenolic Composition of Noble Muscadine (Vitis rotundifolia) by HPLC-MS and the Relationship to Its Antioxidant Capacity. **Journal of Food Science**, 77(10). https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02888.x

CAPÍTULO 9

CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE AÇOUGUES ASSOCIADAS À QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE *IN NATURA*

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 27/02/2021

Erica Lorenna Batista da Silva
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Mossoró - RN
http://lattes.cnpq.br/6337143644251971

Teresa Emanuelle Pinheiro Gurgel
II Unidade Regional de Saúde Pública do Rio Grande do Norte, SESAP/IIURSAP/SUVISA
Mossoró – RN
http://lattes.cnpq.br/5345713690713017

Carolina de Gouveia Mendes da Escossia Pinheiro
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Mossoró - RN
http://lattes.cnpq.br/5614686184082500

Joice Teixeira Souza
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Mossoró - RN
http://lattes.cnpq.br/1516051747284355

Kewen Santiago da Silva Luz
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Mossoró - RN
http://lattes.cnpq.br/1852694076897255

RESUMO: A carne é um excelente meio de desenvolvimento de microrganismos, podendo ser responsável pela transmissão de bactérias patogênicas ao homem. A contaminação ocorre principalmente pela negligência do manipulador e irregularidades do espaço de trabalho. Diante desta problemática, objetivou-se verificar as condições sanitárias dos açougues da cidade de Mossoró-RN. Foram coletadas 18 amostras, sendo nove de carne bovina e nove de frango, *in natura*, com proposito de pesquisar bactérias do gênero *Salmonella* e a determinação do Número Mais Provável (NMP) de bactérias coliformes. Para avaliar as condições sanitárias dos estabelecimentos, aplicou-se um *checklists*. O resultado apresentou presença de coliformes a 35 °C (>1100 NMP/g) e a 45 °C. 44,4% (4 amostras), estavam dentro dos padrões sanitários exigidos pela legislação, variando entre 240 a 460 NMP/g, Nas amostras de frango, apenas 55,6% (5 amostras) apresentaram-se dentro das normas, variando em < 3 a 290 NMP/g. Todas as amostras analisadas apresentaram ausência de *Salmonella* spp. Através dos *checklists* aplicados foi possível identificar que apenas dois estabelecimentos privados atingiram 70% de conformidade. Os dados obtidos neste trabalho corroboram com a premissa de que a implantação das boas práticas de manipulação acompanhada das boas práticas de higiene resulta na maior qualidade e segurança do alimento.

PALAVRAS-CHAVE: Carne bovina, frango, *Salmonella*, coliformes, *checklist*.

HYGIENIC-SANITARY CONDITIONS OF BUTCHERS ASSOCIATED WITH THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MEAT IN NATURA

ABSTRACT: Meat is an excellent medium for microbe development and may be responsible for foodborne diseases. The meat contamination occurs mainly due to the negligence of the

handler. The work aimed to verify the sanitary conditions of butchers in Mossoró city, Brazil. For this work eighteen samples were collected. Nine fresh beef samples and nine fresh chicken samples acquired Mossoró city, Brazil with the purpose of researching bacteria of the genus Salmonella and the determination of the Most Probable Number (NMP) of coliform bacteria. Checklists were also carried out to assess the hygienic and sanitary conditions of each location. In all samples the presence of coliforms at 35 °C was detected (> 1100 MPN/g). For the analysis of coliforms at 45 °C of beef, just 44.4% (4 samples) agreed with the Brazilian sanitary standards (samples values between 240 and 460 MPN/g). Regarding chicken meat samples, only 55.6% (5 samples) agreed with the standards (< 3 to 290 MPN/g). All samples analyzed did not show the presence of *Salmonella* ssp. The applied checklists showed only two private businesses reached 70% of Brazilian legislation compliance. This work shows the implementation of good handling and good hygiene practices results in higher quality and safety of food for consumers.
KEYWORDS: Beef, chicken, *Salmonella*, coliforms, checklist.

1 I INTRODUÇÃO

Carnes são as massas musculares e os demais tecidos que as acompanham, incluída ou não a base óssea correspondente, procedentes das diferentes espécies animais, julgadas aptas para o consumo pela inspeção veterinária oficial (BRASIL, 2017).

Pela sua variedade de nutrientes, a carne se torna um meio de cultura de fácil multiplicação de bactérias patogênicas e deteriorantes de produtos, sendo fontes de toxinfecções alimentares. Outro fatores importantes que podem oferecer risco de contaminação é o transporte, processo de refrigeração inadequada, exposição ao ar, ambientes e outros (LAMAS, 2020). Assis (2014), cita em seus estudos que os agentes de origem biológica são os maiores responsáveis pelas doenças transmitidas por alimentos.

As DTAs são um problema de saúde publica, além de causar doenças nos seres humanos tambem sao respovsaveis por causar perdas economicas em todo o mundo (OLIVEIRAO et al 2010). Tharuk et al (2010), relata que a segurança alimentar é importante para a manutenção da saúde pública, apesar da legislação esta cada vez mais rigorosa em vários países, os casos de DTA ou surtos continuam a ser comuns.

A importância do cuidado com o manipulador, destacando-se que o mesmo deve ser afastado em caso de lesões ou de problemas de saúde que comprometam a qualidade do alimento, tais como: a observação diária do asseio pessoal (mãos sempre higienizadas), se os uniformes são compatíveis à atividade e ainda se estão conservados e limpos. Para garantir esse cuidado os manipuladores devem ser supervisionados e capacitados periodicamente de acordo com a Resolução RDC 216/2004 (BRASIL, 2004).

Segundo RIISPOA – Regulamento e inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, (BRASIL, 2017) no art. 53 os responsáveis pelos estabelecimentos deverão assegurar que todas as etapas de fabricação dos produtos de origem animal sejam

realizadas de forma higiênica, a fim de se obter produtos que atendam aos padrões de qualidade, que não apresentem risco à saúde, à segurança e ao interesse do consumidor.

A legislação brasileira, através da Instrução Normativa n° 60 de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019), define como parâmetro de qualidade microbiológica da carne *in natura* a ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de amostra. Esta é considerada um dos principais agentes patogênicos de origem alimentar no mundo. A RDC de nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), vigente até 23 de dezembro de 2020, estabelece como padrão para coliformes termotolerantes o valor de 10^4 NMP/g, para carnes resfriadas ou congeladas, *in natura*, de aves.

Estudos mostram que os açougues e/ou estabelecimentos que comercializam carnes no Brasil não atendem aos requisitos mínimos exigidos pela vigilância sanitária municipal. Tais como: estrutura física, manipulação correta e disposição dos resíduos sólidos. Isso tem aumentado o número de pessoas com DTA.

Um trabalho realizado por Lamas (2020) destaca que dentre os resultados de não conformidades encontrados nos estabelecimentos que comercializam carne moída e quibe em Presidente Prudente- SP estão em 90% o uso incorreto de uniformes e alguns EPIs, 100% de funcionários utilizando barbas e/ou bigodes, adornos como anéis, pulseiras, colares e ate relógios e 90% de utensílios sujos ou em péssimo estado de conservação.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi verificar a relação das condições higiênico-sanitárias dos açougues com a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Salmonella* ssp. em carnes bovinas e aves, comercializadas no município de Mossoró-RN.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa é de natureza qualitativa, quantitativa, transversal e observacional em que aplicou-se um *checklist* e realizou-se análise microbiológica de carnes bovinas e frango para levantamento de dados sobre as condições higiênico-sanitárias de açougues (supermercados, mercadinhos e mercado público), localizados no município de Mossoró-RN, durante o mês de outubro de 2019. Os estabelecimentos 1,2,3,4 e 5, foram representados pelos açougues privados e 6,7,8 e 9 pelos públicos.

Foram obtidas duas amostras (carne de frango e carne bovina) por açougue, totalizando 18 amostras avaliadas. Os cortes escolhidos foram o chã de dentro (parte traseira do animal) na carne bovina e o peito de frango. Estas foram coletadas pela manhã e transportadas em caixa isotérmica, acondicionadas em embalagem do comércio até o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA, da Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA, Mossoró – RN, onde o experimento foi conduzido.

2.1 Análise Microbiológica

Para as análises microbiológicas, seguiram-se os procedimentos descritos na instrução normativa n° 62 de 2003 (BRASIL, 2003) para a diluição foram retiradas 25 gramas representativos da amostra original e feitas as diluições em 225 mL de solução salina peptonada 0,1%, homogeneizadas por aproximadamente 2 minutos em *stomacher*. Após, foram realizadas diluições sucessivas. Na pesquisa de coliformes a 36 °C, as diluições foram inoculadas em série de 3 tubos (10^{-1}, 10^{-2}, e 10^{-3}) em caldo verde brilhante bile lactose, incubados a 35 °C por 48 h em banho-maria. A presença de coliformes a 35 °C foi confirmada pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durhan) ou efervescência quando agitado gentilmente, e o valor foi dado por número mais provável (NNP/g). Para coliformes a 45 °C inoculou-se as amostras positivas em tubos contendo caldo *Escherichia Coli/EC*, incubados a 45 °C às 48 h. Confirmados através da presença de gases nos tubos. Para determinar os resultados de número mais provável NNP, utilizou-se a tabela de referência presente na instrução normativa.

Para *Salmonella* spp., alíquotas de 25g das amostras foram adicionadas a 225 mL de água peptonada e incubadas a 36 °C. Após 16 a 20 h, alíquotas de 1 mL destas diluições foram transferidas para dois diferentes caldos de enriquecimento Selenite Cistine e Tetrationato, e 0,1 mL para caldo Rappaport incubados por 24 h à 41 °C. Após a incubação, as colônias foram estriadas em placas de petri com ágar *Salmonella – Shigella* (SS) e ágar Rambach, incubadas invertidas à 36 °C por 24 h. As colônias típicas obtidas nas placas foram testadas nos meios ágar Lisina Ferro e ágar Tríplice Açúcar Ferro. Em seguida, as amostras positivas foram submetidas à incubação em ágar Ureia. O resultado é interpretado de acordo com a coloração do tubo: se inalterada (amarelo) suspeita-se de *Salmonella*; caso o tubo com ágar mude para a cor rosa, descarta-se a presença de *Salmonella*. O resultado foi expresso em presença ou ausência de *Salmonella* spp. em 25g de cada amostra.

2.2 Aplicação de *checklist*

O *checklist* aplicado foi adaptado com base no roteiro para inspeção em açougues, utilizado pelo departamento de vigilância sanitária da Prefeitura Municipal de Marabá/Pará, este portanto adaptado da RDC 216/04 (BRASIL, 2004), ficando restrito a 50 perguntas que foram respondidas por método observacional. A análise crítica do *checklist* ocorreu com base nessa mesma resolução.

As perguntas foram separadas em 5 diferentes categorias, são elas:

1- Situação e Condições de Edificação (24 perguntas);

2- Equipamentos/Instrumentos e utensílios (12 perguntas);

3- Aparência dos funcionários da área de produção/manipulação/venda (5 perguntas);

4- Matéria-prima/insumos/produtos finais (4 perguntas);

5- Fluxo de produção/manipulação/controle de qualidade (5 perguntas).

As opções de respostas para o preenchimento do *checklist* eram "SIM", quando o estabelecimento atendia ao item observado, "NÃO", quando o mesmo apresentava não conformidade. A aplicação do *checklist* foi realizada durante a aquisição das amostras.

Os resultados foram tabulados e calculados em percentagem, através de média aritmética, segundo as conformidades e não conformidades do estabelecimento. Cada resposta equivalia a um ponto. Os resultados obtidos eram tabulados nas planilhas do aplicativo Microsoft Excel® (MICROSOFT, 2010) e a partir destes, elaboradas as tabelas e os gráficos. Os parâmetros de qualidade e adequação sanitária foram aqueles que apresentaram resultados a partir de 70% de conformidade. Esse dado foi definido pelos autores da pesquisa.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contaminação da carne pode acontecer em várias etapas, que compreende desde o ambiente de criação do animal, alimentação, abate, como também no processamento. Muitos são os pontos ao longo da cadeia, favoráveis para que essa contaminação aconteça. (ALMEIDA., et al 2017)

3.1 Análises microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas para coliformes realizadas nas nove amostras de carne bovina e frango, coletadas em açougues na cidade de Mossoró-RN, podem ser observados na Tabela 1.

Entre as nove amostras de carne bovina avaliadas, 100% apresentaram resultados positivos (acima de $1{,}10^3$ NMP/g) para o teste de coliformes a 35 °C e 44,4% (4 amostras) apresentaram-se dentro dos padrões da RDC 12/2001 (BRASIL, 2001) para teste de coliformes 45 °C. Esta legislação determina que o limite não ultrapasse 10^4 NMP. A legislação que entrará em vigor, IN 60/ 2019 (BRASIL, 2019), não determina valores de coliformes totais e termotolerantes em carne bovina "*in natura*". Para os demais resultados representados na tabela 1 como $>10^3$ NMP/g, não se pode determinar se estão dentro dos parâmetros, pois são necessárias mais diluições para se chegar ao número concreto. Os valores encontrados nas amostras insatisfatórias concordam com outros estudos, como é o caso de Silvestre et al. (2014) que em sua pesquisa, detectaram 100% de coliformes termotolerantes em carnes bovinas *in natura*, coletadas em açougues e supermercados, no município de Alexandria-RN. Lamas (2020) investigou a presença de coliformes termotolerantes em amostras de carne moída e quibe cru comercializados em Presidente Prudente – SP, os resultados obtidos demostram 6 amostras com valores abaixo do limite e 18 amostras com a presença de coliformes termotolerantes com valores acima do que preconiza a legislação, em uma delas o resultado foi superio a 100 NMP/g.

A presença de coliformes nos alimentos está relacionado a diversos fatores, tais como, local de armazenamento, transporte, equipamentos moedores, manipuladores, ambiente, recipientes e utensílios inadequados segundo a legislação (BRASIL, 2004).

Amostras de carne bovina	**coliformes a 35 °c**	**coliformes a 45 °c**
1	>1,10³ NMP/g	240NMP/g
2	>1,10³ NMP/g	290 NMP/g
3	>1,10³ NMP/g	460 NMP/g
4	>1,10³ NMP/g	290 NMP/g
5	>1,10³ NMP/g	>1,10³ NMP/g
6	>1,10³ NMP/g	>1,10³ NMP/g
7	>1,10³ NMP/g	>1,10³ NMP/g
8	>1,10³ NMP/g	>1,10³ NMP/g
9	>1,10³ NMP/g	>1,10³ NMP/g
Amostras de frango		
1	240 NMP/g	15 NMP/g
2	210 NMP/g	75MP/g
3	>1,10³ NMP/g	290 NMP/g
4	240 NMP/g	>1,10³ NMP/g
5	Ausente	< 0,3 NMP/g
6	>1,10³ NMP/g	>1,10³ NMP/g
7	>1,10³ NMP/g	>1,10³ NMP/g
8	>1,10³ NMP/g	>1,10³ NMP/g
9	>1,10³ NMP/g	1100 NMP/g

Tabela 1. Enumeração de Coliformes a 35 °C e coliformes a 45 °C, encontrados nas amostras de carne bovina e frango coletadas no município de Mossoró/RN no ano de 2019.

Fonte: Própria (2019)

As amostras de carnes de frango apresentaram resultados satisfatórios em 55,6% (5 amostras), de acordo com a Resolução nº 12/2001 da Agência Nacional da Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) que estabelece como padrão de coliformes a 45 °C a tolerância de 10^4 para carnes resfriadas ou congeladas, "*in natura*", de aves (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes). Na IN nº60/2019, não há padrão de coliforme a 35 °C para carne de aves. Um estudo realizado por Tominaga (2019), em vinte amostras de carne de frango comercializados no japão, apresentou resultados de contaminação microbiológica por coliformes variando entre 6,8 e 6,9 $\log_{10}$ UFC/g.

Os resultados confirmaram ausência de *Salmonella* ssp., em todas as amostras de carnes e frangos. As legislações brasileiras, através da resolução RDC de nº 12 de 02 de janeiro de 2001 como também a mais recente, a IN nº 60/2019, definem como parâmetro de qualidade microbiológica da carne *in natura*, a ausência de *Salmonell*a spp. em 25 gramas de amostra. (BRASIL, 2019), estando neste caso em conformidade sanitária sob esse aspecto. Os resultados também estão de acordo com estudos realizados por Muchinski e Degenhardt (2016), que coletaram amostras de carne de frango temperada em sete

estabelecimentos de médio e grande porte no Município de Xanxerê, SC, apresentaram todas as amostras negativas para *Salmonella* spp.

Zaboli et al., (2019) cita em sua literatura que a carne de ave é a principal fonte proteica para a população humana na maioria das áreas do mundo. Vale ressaltar que há algumas restrições quanto ao seu preparo e manuseio, uma vez que uma má utilização do produto pode resultar em toxinfeccões alimentares (HESSEL et al., 2019).

Nesta parte da pesquisa, nota-se que em 3 açougues (1 ao 3), os resultados microbiológicos foram satisfatórios para coliformes a 45 °C variando entre 15 e 460 NMP/g. O açougue 4 apresentou resultado insatisfatório apenas para coliformes a 45 °C (> $1{,}10^3$ NMP/g) na amostra de frango. O açougue 5 apresentou na carne bovina valores acima de $1{,}10^3$ NMP/g, ausência de coliformes nas amostras de frango a 35°C e valores de < 0,3 NMP/g a coliformes a 45°C. Os açougues de 5 a 9 apresentaram-se insatisfatórios em resultados de coliformes a 35° e 45 °C na carne bovina (acima de $1{,}10^3$ NMP/g) e nas amostras de 6 a 9 de frango.

3.2 *Checklist*

Abaixo estão relacionados os resultados da aplicação do *checklist*, para a verificação das condições de higiene e estrutural, em nove açougues, localizados em supermercado, mercadinhos e mercado público no Município de Mossoró/RN:

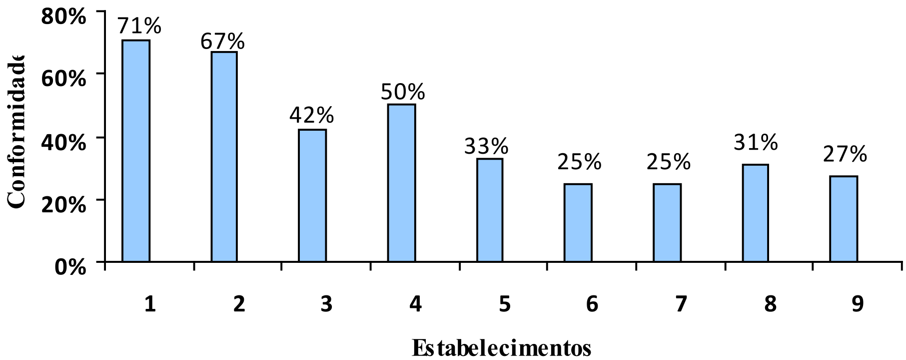


Gráfico 1. Situação e condição da edificação dos açougues comercializadores de carne bovina e frango, no mês de outubro de 2019, no município de Mossoró/RN.

Fonte: Própria (2019)

Sobre a situação e condições de edificação (gráfico 1) - Os açougues avaliados apresentavam estrutura física irregular, principalmente os 6, 7, 8 e 9 (localizados no mercado público) em que os boxes estavam em áreas com focos de insalubridade, era perceptível a presença de objetos em desuso na área externa a manipulação, o que

aumenta a probabilidade de contaminação, pois pode atrair pragas. As áreas internas e externas do estabelecimento devem estar livres de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente, não sendo permitida a presença de animais (BRASIL, 2004). O piso, teto e paredes se encontravam no momento da observação em estado precário de conservação, o que dificulta a limpeza.

Dois açougues (1 e 2), possuíam banheiros exclusivos para funcionários separados por sexo e em bom estado de conservação. Nos banheiros de uso geral não tinham sabonete nem papel toalha. As instalações sanitárias devem possuir lavatórios e estar supridas de produtos destinados à higiene pessoal tais como papel higiênico, sabonete líquido inodoro antisséptico ou sabonete líquido inodoro e produto antisséptico e toalhas de papel não reciclado ou outro sistema higiênico e seguro para secagem das mãos. Os coletores dos resíduos devem ser dotados de tampa e acionados sem contato manual (BRASIL, 2004).

De acordo com Abreu e Spinelli (2009), o ambiente deve ter iluminação uniforme, sem ofuscamento, sem contrastes excessivos, sombras e cantos escuros. Segundo a RDC 216/04, as lâmpadas e luminárias devem permitir limpeza, estarem protegidas contra explosões e quedas acidentais e estas devem estar em bom estado de conservação. Dos nove estabelecimentos visitados apenas um encontrava-se em conformidade com as exigências acima mencionadas.

Segundo Farias et al. (2020) os riscos existentes de contaminação de alimentos nos estabelecimentos podem estar relacionadas a falta de informação e educação dos responsáveis pela organização, gerenciamento e operacionalização das atividades. Não somente a falta de recursos fianceiros

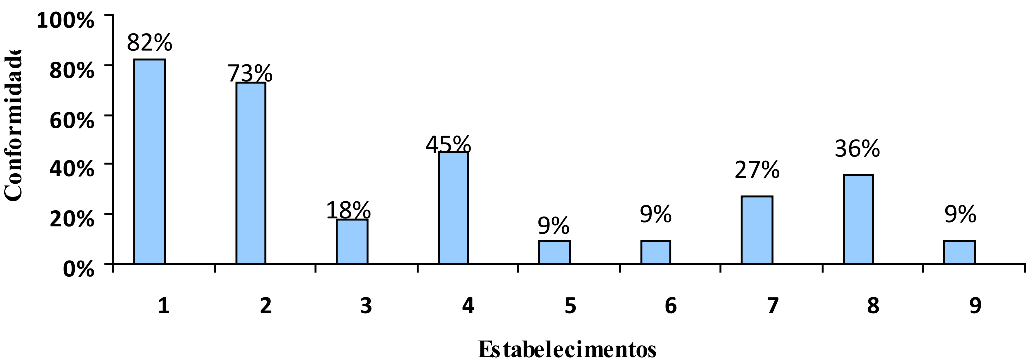


Gráfico 2. Equipamentos/instrumentos e utensílios de açougues comercializadores de carne bovina e frango, no mês de outubro de 2019, no município de Mossoró/RN.

Fonte: Própria (2019)

Sobre os equipamentos, instrumentos e utensílios, observados nos locais de comercialização de carne (gráfico 2) apenas dois estabelecimentos privados (1 e 2) apresentaram-se em conformidade. Os demais apresentaram-se abaixo das conformidades exigidas pela legislação. As principais deficiências estavam relacionadas a falta de equipamentos suficientes para realização do trabalho e pelo estado precário de conservação e higienização. Segundo a RDC 216/04 os equipamentos, móveis e utensílios devem ser devidamente higienizados por um funcionário devidamente capacitado. Sendo estas registradas e realizadas em frequência adequada, onde devem ser tomadas precauções para impedir a contaminação dos alimentos por produtos saneantes, pela suspensão de partículas e pela formação de aerossóis (BRASIL, 2004).

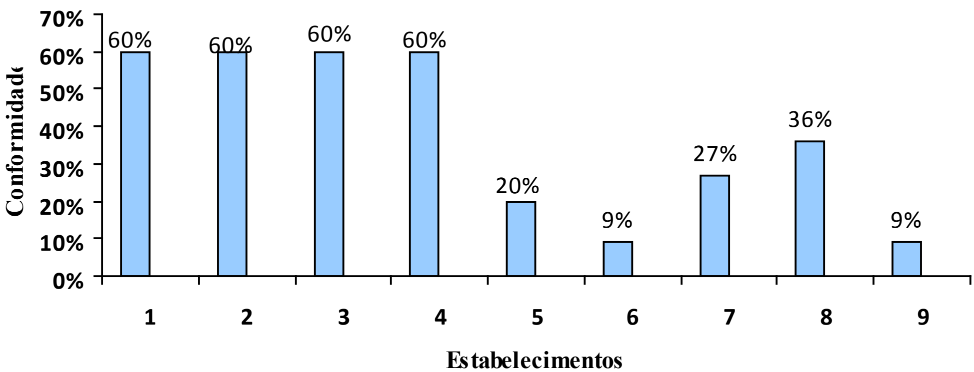


Gráfico 3. Aparência dos colaboradores da área de produção/manipulação/venda de açougues comercializadores de carne bovina e frango, no mês de outubro de 2019, no município de Mossoró/RN.

Fonte: Própria (2019)

Com relação a aparência dos funcionários da área de produção/manipulação/venda (gráfico 3), Os estabelecimentos privados (1,2,3,4 e 5) apresentaram pessoal na área de manipulação devidamente fardados, dotados de equipamentos de proteção individual (EPI), com boa apresentação e hábitos higiênicos adequados, enquanto nos estabelecimentos públicos (6,7,8 e 9) pode-se constatar falta de roupas adequadas ao serviço, muitas vezes o vendedor manipulava a carne e o dinheiro sem higiene correta das mãos, além do uso de adornos (BRASIL, 2004). Um dado preocupante é a ausência do uso de uniformes e EPI's, visto que praticas como esta, estar relacionada a doenças transmitidas por alimentos (LIMA, 2006).

O Ministério do Trabalho, por meio da Norma Regulamentadora nº 6 (NR-6), obriga a empresa a fornecer aos empregados, gratuitamente, Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) em estado adequado ao risco e em perfeito estado de conservação (BRASIL, 2010).

As práticas inadequadas de higiene e processamento realizado por manipuladores de alimentos podem provocar a contaminação dos alimentos. A maioria dos manipuladores carece de informações relativas aos cuidados higiênico-sanitários, que devem ser adotados durante a produção dos alimentos.

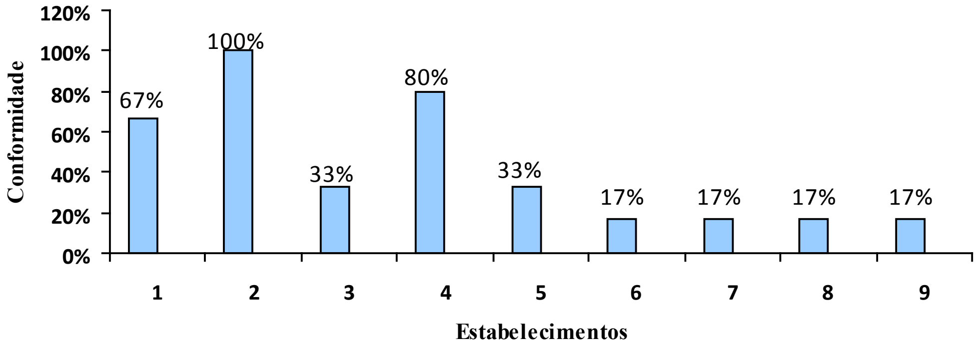


Gráfico 4. Matéria-prima/ insumos/ produtos finais de açougues comercializadores de carne bovina e frango, no mês de outubro de 2019, no município de Mossoró/RN.

Fonte: Própria (2019)

Nos itens sobre matéria-prima/ insumos/ produtos finais (gráfico 4), as matérias-primas dos açougues 1, 2, 3, 4 e 5, localizados em supermercados e mercadinhos continham procedência controlada, eram inspecionadas pelos órgãos competentes e armazenadas em condições controladas de temperatura. Os açougues 3 e 5 estavam em condições de não conformidade elevada assim como nos açougues 6, 7, 8 e 9, localizados no mercado, nestes as carnes estavam expostas à venda a temperatura ambiente colocando em risco a saúde do consumidor. As matérias-primas e os ingredientes caracterizados como produtos perecíveis devem ser expostos à temperatura ambiente somente pelo tempo mínimo necessário para a preparação do alimento, a fim de não comprometer a qualidade higiênico-sanitária do alimento preparado (BRASIL, 2004).

As principais fontes e rotas de contaminação da carne descritas por Jay (2005) são: “I- a faca de sangria má esterilizada; II- a própria pele do animal; III- o trato gastrintestinal que possui uma enorme e variada flora microbiana e, se perfurado, pode contaminar toda a carcaça; IV- A mão dos manipuladores; V- os recipientes de guarda da carne que não sendo esterilizados carreiam microrganismos contaminantes; VI- o ambiente de manuseio e armazenamento; e os nódulos linfáticos que, assim como o trato gastrintestinal, pode ser perfurado e contaminar a carne ao seu redor”.

O cuidado para se evitar contaminação nas etapas posteriores, como: transportes, inadequação dos processos de refrigeração, congelamento e descongelamento, exposição

ao ar e ao ambiente, embalagem e armazenamento são importantes para garantir a qualidade do alimento (MERCIER et al., 2017; HENNEKINN, 2018).

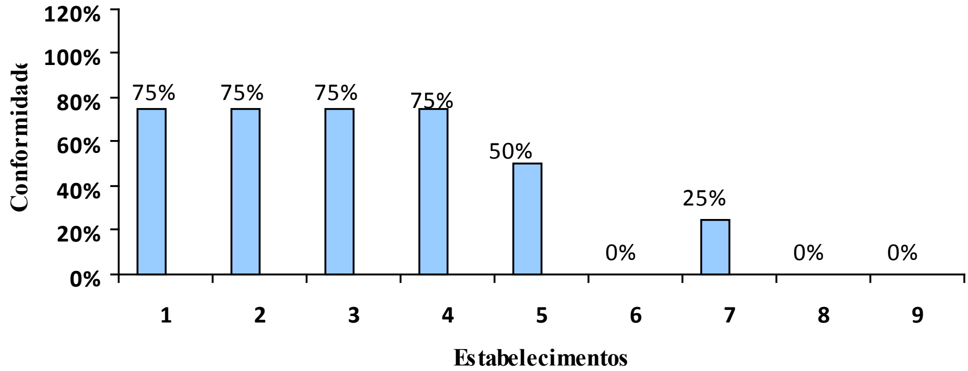


Gráfico 5. Fluxo de produção/ manipulação/ controle de qualidade de açougues comercializadores de carne bovina e frango, no mês de outubro de 2019, no município de Mossoró/RN.

Fonte: Própria (2019)

Ao avaliar o fluxo de produção, manipulação e controle de qualidade dos estabelecimentos comercializadores de carne (gráfico 5), verificou-se que apenas os açougues 1, 2, 3, 4 e 5, armazenavam as carnes separadas por espécies, evitando a contaminação cruzada. Nos outros pode-se perceber que as carnes eram armazenadas sem distinção de espécie e sem identificação de prazo de validade. As matérias-primas, os ingredientes e as embalagens devem ser armazenados em local limpo e organizado, de forma a garantir proteção contra contaminantes. Devem estar adequadamente acondicionados e identificados, sendo que sua utilização deve respeitar o prazo de validade. Para os alimentos dispensados da obrigatoriedade da indicação do prazo de validade, deve ser observada a ordem de entrada dos mesmos. (BRASIL, 2004).

O açougue 5 não fazia retirada frequente dos resíduos e rejeitos após a manipulação, assim como nos açougues 7, 8 e 9, onde as sobras dos cortes eram descartadas no final do expediente. Os resíduos devem ser frequentemente coletados e estocados em local fechado e isolado da área de preparação e armazenamento dos alimentos, de forma a evitar focos de contaminação e atração de vetores e pragas urbanas (BRASIL, 2004).

Para Assis (2014), pensar em boas praticas consiste em estabelecer um sistema básico de requisitos sanitários, incluindo infraestrutura, fluxo de operação, higiene geral, saúde e higiene dos manipuladores, qualidade da agua, controle de pragas, entre outros.

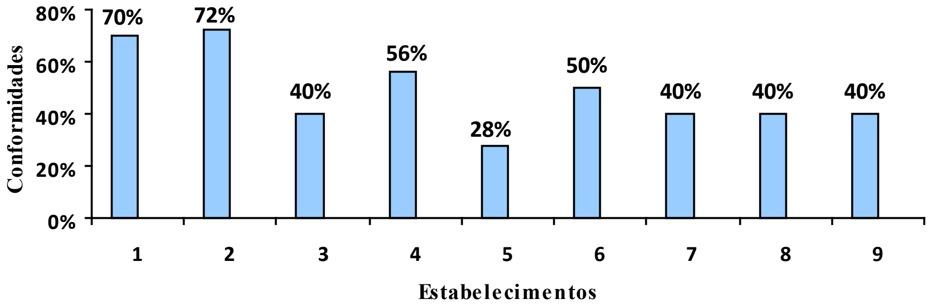


Gráfico 6. Avaliação geral das conformidades de açougues comercializadores de carne bovina e frango, no mês de outubro de 2019, no município de Mossoró/RN.

Fonte: Própria (2019)

De acordo com os dados obtidos sobre a avaliação geral das conformidades (gráfico 6), constatou-se que as condições higiênico-sanitárias dos açougues ainda são precárias, o que influencia diretamente na qualidade microbiológica das carnes. Na avaliação geral, somente os açougues 1 e 2 (22,22%), localizados em dois grandes supermercados do município, conseguiram atingir valores igual ou superior a 70%. No entanto, a menor adequação foi referente à o açougue 5 (28%) localizado em um mercadinho. O que influenciou na resposta dos ensaios microbiológicos, com resultados satisfatórios para o açougue 1,2,3,4 e 5 para coliformes a 45 °C. Vale ressaltar que os açougues de 5,6,7,8 e 9 apresentaram-se insatisfatórios para coliformes a 35° e 45 °C na carne bovina e nas amostras de 6 a 9 de frango.

No caso do estabelecimento 3, apesar da avaliação global desfavorável (40%), os resultados microbiológicos estavam todos dentro dos padrões sanitários, que neste caso, deve-se repetir o experimento e averiguar com mais detalhes toda a logística e processos de manipulação dos alimentos. Os estabelecimentos 6,7,8 e 9 (mercado público) foram os mais precários, apresentando em sua maioria 40% de conformidade, principalmente devido a comercialização acontecer em boxes, sem condições estruturais adequadas, os produtos coletados estavam expostos nas bancadas sem refrigeração e manipulação inapropriada.

No geral, pode-se perceber que grande parte dos açougues está fora dos padrões higiênicos-sanitários exigidos pela legislação, os proprietários deixam a desejar nas instalações e edificações, usam matérias e utensílios em péssimos estados de conservação, não possuem higiene adequada de mãos e materiais o que foi refletido nos resultados microbiológicos insatisfatórios dos alimentos analisados, principalmente da carne bovina. Pode-se observar ainda, que alguns dos açougues da iniciativa privada (do 1 ao 5), foram melhor classificados, provavelmente por estes terem a maior consciência quanto a importância do alvará sanitário ou, pela obrigação de ter o documento público, para participar de licitações ou ainda para poder comercializar certos tipos de produtos.

Portanto, nem sempre as deficiências se prendem à falta de recursos financeiros; partes importantes dessas deficiências estão vinculadas à falta de informação dos responsáveis pela organização, gerenciamento e operacionalização das atividades, como também a ausência de um olhar mais assertivo e criterioso dos órgãos fiscalizadores (vigilância sanitária, instituto de defesa ao meio ambiente, ministério da agricultura), e a realização de um trabalho multidisciplinar, a fim de averiguar toda a rede produtora de carne, para realizar um sistema integrado de rastreamento e controle desses alimentos; pois, a contaminação nem sempre ocorre na ponta da cadeia produtiva.

Assim como o investimento em capacitação e supervisão continuada da mão-de-obra envolvida na manipulação dessas carnes seria uma alternativa a ser realizada como forma de garantir condições higiênico-sanitárias adequadas e a qualidade do produto comercializado, contribuindo para a promoção da saúde pública.

4 | CONCLUSÃO

Conclui-se que a maioria dos açougues apresentaram condições higiênico-sanitárias insatisfatórias o que influenciou nos resultados das análises microbiológicas. Apenas dois açougues (1 e 2) atingiram 70% ou mais de conformidade, como propôs o estudo. Estes açougues foram os que apresentaram os melhores resultados microbiológicos, fazendo-nos entender que as condições de edificação, os equipamentos moveis e utensílios, o manipulador, a área de produção, a matéria-prima, entre outros, influenciam diretamente na qualidade da carne bovina e de frango. O cuidado com estes itens citados evita a contaminação por coliformes e *Salmonella.*

REFERÊNCIAS

ABREU, E. S.; SPINELLI, M. G. N. **Logística e Suprimentos**. In: PINTO, A. M. S.; ABREU, E. S.; SPINELLI, M. G. N. **Gestão de unidades de alimentação e nutrição: um modo de fazer**. São Paulo: MethaLtda, 2009. cap.9, p.119-141.

ALMEIDA, L; et al. **Frequência de contaminação microbiológica em Frigorifico.** R. bras. Tecnol. Agroindustr., Ponta Grossa, v. 11, n. 1, p. 2314-2331, jan./jun.2017

ASSIS, de Luana. **Principais Microorganismos envolvidos em DVA. Alimentos Seguros: Ferramenta para gestão e controle da produção e distribuição.** Senac Nacional, Rio de Janeiro, v.2, n. 2, 2014

BRASIL, Anvisa. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, 16 set. 2004. Disponível em: <http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=12546>. Acesso em: 16 dezembro de 2019

BRASIL, Anvisa. RDC, nº. 12 de 2 de janeiro de 2001 – **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da União de 10/01/2001

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003, Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Diário Oficial da União de 18/09/2003

BRASIL. Anvisa. Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019, **Estabelece listas de padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União de 26/12/2019

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Regulamenta a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**, Brasília, DF, 2017

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. **Norma Regulamentadora no 6 - Equipamento de Proteção Individual - EPI.** Brasília: ministério do trabalho e Emprego, 2010.

FARIAS, A.S.; AKUTSU, R.C.C.A.; BOTELHO, R.B.A.; COELHO ARAÚJO, W.M.; SILVA, I.C.; SÁVIO, K.E.; ZANDONADI, R.P. **Food Safety Conditions in Home-Kitchens: A Cross-Sectional Study in the Federal District/Brazil**. Int. J. Environ. Res. Public Health 2020, *17*, 4897.

HENNEKINNE, J.A. **Staphylococcus aureus as a Leading Cause of Foodborne Outbreaks Worldwide.** In: FETSCH, Alexandra (Org.). Staphylococcus aureus. [s.l.]: Academic Press, 2018, p. 129–146.

HESSEL, C. T.; ELIAS, S. O.; PESSOA, J. P. **Food safety behavior and handling practices during purchase, preparation, storage and consumption of chicken meat and eggs.** Food Research International, v. 125, p. 108631, 2019.

JAY, J. et al. **Microbiologia de Alimentos.** 6. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2005

LAMAS, I.B; et al. **Avaliação microbiológica de carne moída e quibe cru comercializada em uma cidade do Oeste Paulista**. Colloquium vitae. jan- abr; 12(1): 86-92 2020

LIMA, C. R, **Quem está na minha cozinha?** São Paulo: Livraria Varella, 2006.

MERCIER, S.; VILLENEUVE, S.; MONDOR, M. **Time–Temperature Management Along the Food Cold Chain: A Review of Recent Developments**. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 16, n. 4, p. 647–667, 2017.

MUCHINSKI, M., DEGENHARDT, R. **Qualidade microbiológica de carne de frango temperada comercializada em açougues**. Jornada Integrada Em Biologia, 91. 2016

OLIVEIRA, A. B. A., Paula, C. M. D., Capalonga, R., Cardoso, M. R. I. & Tondo, E. C. 2010. **Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão**. HCPA, 30, 279-285.

SILVESTRE, M.K.; ABRANTES, M.R.; PAIVA, W.S.; SOUZA, Ê.S.; SILVA, J.B. A. **Avaliação da qualidade da carne bovina in natura comercializada no município de Alexandria-RN**. Acta Veterinária Brasílica, v. 7, n. 4, p. 327-331, 2014.

THARUK, M., Olafsson, S., Lee, J. S., Hurburg, C. R. 2010. **Data mining for recognizing patterns in foodborne disease outbreaks**. Journal of Food Engineering, 97, 213-227.

TOMINAGA, T. **Rapid detection of coliform bacteria using a lateral flow test strip assay.** Journal of Microbiological Methods, v. 160, p. 29–35, 2019.

ZABOLI, G.; HUANG, X.; FENG, X. How can heat stress affect chicken meat quality? – a review. **Poultry Science**, v. 98, n. 3, p. 1551–1556, 2019.

CAPÍTULO 10

CONTAGEM DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*, DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E DETECÇÃO DE *SALMONELLA* SPP. EM CARNE MECANICAMENTE SEPARADA

Data de aceite: 03/05/2021

Andressa Barella de Freitas
SENAI SC, Faculdade Senai Chapecó
Chapecó-SC
http://lattes.cnpq.br/8970762260597176

Creciana Maria Endres
SENAI SC, Faculdade Senai Chapecó
Chapecó-SC
https://orcid.org/0000-0002-5662-2197

Andreia Paula Dal Castel
SENAI SC, Faculdade Senai Chapecó
Chapecó-SC
https://orcid.org/0000-0003-1221-8843

Maristela Schleicher Silveira
SENAI SC, Faculdade Senai Chapecó
Chapecó-SC
https://orcid.org/0000-0002-0468-2411

Jaqueline Lidorio de Mattia
UERGS RS, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul
Porto Alegre-RS
http://lattes.cnpq.br/3626254710800402

Elizandro Pruence Nickele
SENAI SC, Faculdade Senai Chapecó
Chapecó-SC
http://lattes.cnpq.br/0589173440478424

RESUMO: A carne mecanicamente separada (CMS) é de grande importância para as indústrias de alimentos, e também para o consumidor, levando em conta que é uma alternativa de consumo de proteína pois está presente em diversos produtos tais como: empanados, salsichas e mortadelas. O presente estudo teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de carne mecanicamente separada proveniente de agroindústrias da região oeste de Santa Catarina. Foram analisadas dez amostras em duplicata para os ensaios de contagem de *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus* e detecção de *Salmonella* spp.. Todas as amostras analisadas ficaram dentro do preconizado pela legislação. Com isso, percebe-se que as empresas atendem aos requisitos de boas práticas de fabricação, garantindo dessa forma a qualidade dos produtos produzidos.
PALAVRAS-CHAVE: Carne Mecanicamente Separada, Instrução Normativa 4, MAPA.

COUNTING OF *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND DETECTION OF *SALMONELLA* SPP. IN MECHANICALLY SEPARATE MEAT

ASTRACT: Mechanically separated meat (CMS) is of great importance to the food industry, and also to the consumer, taking into account that it is an alternative protein consumption because it is present in several products such as: breaded, sausages and bologna. The present study aimed to evaluate the microbiological quality of mechanically separated meat from agroindustries in the western region of Santa Catarina. The analyzes carried out are in accordance with Normative Instruction 4 of the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply. Ten samples were analyzed in duplicate for the

counts of Clostridium perfringens and Staphylococcus aureus and *Salmonella* spp. detection. All samples analyzed were within the limits recommended by legislation. Thus, it is clear that companies meet the requirements of good manufacturing practices, thus ensuring the quality of the products produced.
KEYWORDS: Mechanically Separated Meat, Normative Instruction 4, MAPA

1 I INTRODUÇÃO

Os alimentos sejam de origem animal ou vegetal, in natura ou processados, podem apresentar contaminação seja ela por fatores intrínsecos como, atividade de água (Aa), pH, disponibilidade de nutrientes, entre outros, ou fatores extrínsecos como, por exemplo; temperatura, condições do ambiente, etapas do processo e manipuladores (FRANCO e LANDGRAF, 2005). A carne mecanicamente separada (CMS) é utilizada em substituição à carne in natura em produtos de salsicharia não tipificados, cozidos, na proporção máxima de 60% (BRASIL, 2000).

A preferência do consumidor por cortes específicos de carnes tais como filés ou sassami no caso dos frangos, ao invés de frangos inteiros, picanhas e partes nobres do bovino e suíno, gerou a necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias para o aproveitamento dos ossos, e partes não tão nobres dos animais provenientes do processo de desossa (TRINDADE et al., 2008). Deste modo, foi desenvolvida a técnica denominada de CMS, esta consiste na trituração dos componentes que seriam descartados na desossa, para posterior utilização como matéria-prima na elaboração de produtos como empanados, salsichas e mortadelas (ROSSI e GARCIA, 2007).

Esta é uma alternativa de aproveitamento, pois otimiza o material que antes seria descartado, essa se revelou economicamente importante e tem contribuído para o aumento do faturamento e da rentabilidade do setor cárneo (LAWRIE, 2005). O tipo de matéria-prima utilizada influencia o rendimento e a qualidade da CMS. O teor de cálcio, ferro, coloração e composição de proteínas, umidade e gordura variam conforme a matéria-prima. A idade do animal também influência na proporção dos cortes (OLIVO, 2006).

A qualidade da CMS pode ser afetada por vários fatores, como a pressão aplicada sobre a matéria prima sendo que quanto maior a pressão, maior a quantidade de ossos, tendões e outros resíduos não cárneos no produto final. A CMS é composta de tecidos musculares, conectivos e adiposos, variando de acordo com a matéria prima. (NUNES, 2003; PERLO et al., 2006, apud, MÒRI et al., 2006)

O CMS é utilizado como matéria – prima para diversos produtos tais como: mortadelas, salsichas, linguiças cozidas, empanados, apresuntados, entre outros. Se essa matéria – prima utilizada não for de boa qualidade, ou seja, se estiver com uma contaminação inicial alta, ou com as características físico-químicas alteradas o produto final não estará apto a ir para as gôndolas dos supermercados. Mesmo passando por tratamento térmico, seja na indústria, ou na casa do consumidor, se a contaminação inicial

for muito alta, ou se o tratamento térmico não atingir a temperatura ideal para reduzir a carga microbiana a níveis aceitáveis os micro-organismos irão continuar presentes em grande número no alimento, podendo causar danos a saúde do consumidor, influenciando diretamente na imagem e marca da empresa.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade da Carne Mecanicamente Separada (CMS) produzida em agroindústrias da região oeste de Santa Catarina através de avaliação microbiológica comparando os resultados obtidos com a legislação (Instrução Normativa Nº 4, de 31 de março de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 10 amostras foram analisadas em duplicata coletadas em diferentes empresas frigoríficas da região Oeste de Santa Catarina, no período de agosto de 2019 a dezembro 2019, para os ensaios de contagem foram realizadas as diluições 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3}. Para o ensaio de *Staphylococcus aureus* foi utilizada a metodologia oficial em ISO 6888-1:1999**.** Para a contagem de *Clostridium perfringens* foi utilizada a metodologia ISO 7937:2004.

Realizou-se também o ensaio de detecção de *Salmonella* spp. pela metodologia rápida VIDAS AOAC Official Method 2011.03, a amostra que se apresentou positiva foi confirmada pela ISO 6579-1:2014. As amostras analisadas foram da rotina do LANAL microbiologia do Senai Chapecó, essas amostras foram selecionadas de forma aleatória.

3 | RESULTADO E DISCUSSÃO

A Instrução Normativa nº 4, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), descreve o regulamento técnico para a fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada (CMS) de aves, bovinos e suínos. Estabelece a identidade e requisitos mínimos de qualidade que deverá obedecer ao produto Carne Mecanicamente Separada para a utilização em produtos cárneos. Determina limites máximos de contagem para os ensaios de *S. aureus* e *C. perfringens*, e ausência para o patógeno *Salmonella spp.*.

Um dos parâmetros estabelecidos na IN nº 4 é justamente para a conservação da Carne Mecanicamente Separada, que deve dar-se da seguinte forma:

> a) Se o CMS não for utilizado diretamente como ingrediente de um produto cárneo logo após o processo de separação mecânica, a mesma deverá ser refrigerada a uma temperatura não superior a 4ºC por no máximo 24 horas.
>
> b) Se o CMS for armazenado no máximo até 0ºC poderá ser utilizada em até 72 horas após sua obtenção.

c) A Carne Mecanicamente Separada que for congelada deverá ser em blocos com espessura máxima de 15 cm e conservada em temperatura não superior a – 18 ºC no prazo máximo de 90 dias.

d) Em todos os casos acima descritos, deverão ser rigorosamente observados os padrões microbiológicos e proíbe-se o congelamento do CMS resfriado, se vencido o seu prazo de conservação conforme o descrito nos itens a e b (BRASIL, 2000).

Ao analisar os microrganismos *S. aureus*, *C. perfringens e Salmonella spp.*, é possível abranger todos os tipos de contaminação, tendo em vista que o *C. perfringens* é uma contaminação associada ao ambiente, desde a granja aonde a ave, suíno ou bovino foram criados a linha de produção onde foi abatido e processado. Já a *Salmonella* é uma bactéria presente no trato digestório da maioria dos animais de sangue quente, principalmente das aves, então na hora em que o animal for abatido, e passar pela evisceração pode haver contaminação das outras partes do próprio animal, mas também pode haver a contaminação cruzada na linha de produção.

O *S. aureus* é um microrganismo que está principalmente presente nos manipuladores, ou seja, se os EPI´s não forem utilizados de maneira correta, se não for feita a higienização das luvas a cada determinado tempo, se os colaboradores não tiverem treinamentos adequados, a respeito da importância da higiene na linha de produção, pode haver contaminação por este microrganismo no produto. A Tabela 1, apresenta os valores que a legislação (IN 04) define como padrão máximo para contagem microbiológica para carne mecanicamente separada, para amostras representativas de um lote, ou seja, quando n=5.

Microrganismo	**Categoria**	**Critério de aceitação**	**Método de análises**
Salmonella spp..	10	n= 5, c= 2 25g	APHA- 1992, ou FDA 7th Ed., 1992 ISSO
S. aureus	07	n= 5, c= 2, m= 5 x 10^2, M= 5 x 10^3	APHA- 1992, ou FDA 7th Ed., 1992.
C. perfringens	07	n= 5, c= 2, m= 1 x 10^2, M= 1 x 10^3	FDA 7th Ed., 1992.

Tabela 1. Valores para contagem microbiológica de carne mecanicamente separada - IN 4 de 2000.

Fonte: Brasil, 2000.

Segundo a Resolução – RDC nº12, de 2 de Janeiro de 2001, n é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. No caso o padrão estabelecido é ausência em 25g, sendo possível a mistura das alíquotas retiradas de cada unidade amostral. Isto serve para todos os microrganismos em que o padrão estabelecido for presença ou ausência, como por exemplo, a *Listeria spp..* ou a *Salmonella* spp..

Neste estudo utilizou-se a Instrução Normativa nº 4, de 31 de Março de 2000, como padrão de referência, portanto a cada 5 unidades analisadas poderia se ter 2 presenças que ainda assim estariam dentro dos limites, por tanto aceitos, por esta legislação. Após a realização das análises microbiológicas, foram obtidos os seguintes resultados (Tabela 2).

Amostras	*C. perfringens*	*S.aureus*	*Salmonella spp..*
A1	2,6 X 10^1	3,4 X 10^2	AUSÊNCIA
A2	2,0 X 10^1	3,0 X 10^2	AUSÊNCIA
A3	3,4 X 10^1	2,6 X 10^2	AUSÊNCIA
A4	2,9 X 10^1	2,9 X 10^2	AUSÊNCIA
A5	3,1 X 10^1	3,8 X 10^2	AUSÊNCIA
A6	3,2 X 10^1	1,9 X 10^1	PRESENÇA
A7	2,5 X 10^1	3,3 X 10^2	AUSÊNCIA
A8	2,0 X 10^1	4,2 X 10^2	AUSÊNCIA
A9	2,1 X 10^1	2,1 X 10^1	AUSÊNCIA
A10	2,2 X 10^1	5,3 X 10^2	AUSÊNCIA

Tabela 2. Resultados obtidos nas análises microbiológicas

Fonte: Autores, 2019.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que as carnes mecanicamente separadas produzidas nos frigoríficos da região Oeste de Santa Catarina estão dentro dos padrões microbiológicos preconizados pela legislação vigente, com exceção da amostra A6 que apresentou presença de *Salmonella* spp. . Esses resultados demostram a importância do processo de refrigeração do produto, tendo em vista que as amostras analisadas estavam resfriadas (entre 2ºC a 4ºC) e coletadas a menos de 24 horas no momento da análise. Por tanto,as amostras analisadas estavam dentro do limite de tempo e temperatura preconizados pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) para CMS, que está descrito na IN 4 de 31 de Março de 2000.

Carvalho e Cortez, 2005, ao avaliar 60 amostras de carne mecanicamente separada procedentes de frigoríficos da região Noroeste do Estado de São Paulo, constataram que 15 amostras não estavam aptas para consumo, pois apresentavam contaminação por Salmonella spp.. Já os autores Rossi e Garcia, 2007avaliaram a presença de Salmonella spp.., em amostras de CMS obtidas de dorsos, ossos do peito e pescoços imediatamente após a desossa manual das carcaças pré-resfriadas, com temperatura entre 7°C e 10°C, em continuidade ao processo de abate. Das 40 amostras analisadas, 11 apresentaram presença de *Salmonella spp..*, representando 27,5% das amostras analisadas, justificando dessa forma a importância do controle do processo e de estudos dessa natureza. Em estudo complementar os autores avaliaram amostras de CMS obtidas de dorsos, ossos do

peito e pescoços, antes de serem submetidos à desossa mecânica, eram resfriados até temperatura entre 0º e 2Cº, em túnel de congelamento contínuo (-40°C), o que demandava um tempo de 2 a 3 horas. Do total de 40 amostras analisadas 10 apresentaram-se positivas, representando 25% das amostras pesquisadas. A porcentagem de presença de *Salmonella spp.*. no total de amostras foi de 26,2%, um tanto preocupante, mas que é reflexo da ocorrência de *Salmonella* spp.. em carcaças de frango, presentes em 10%, 32% e 46,7% das amostras em trabalhos realizados por Costa et al. (1997), Santos et al. (2007) e Almeida et al. (2000, apud ROSSI e GARCIA, 2007), respectivamente.

Isso demonstra que, apesar de a grande maioria dos resultados obtidos neste estudo terem sido satisfatórios em relação às amostras avaliadas, os controles constantes no processo, tanto de obtenção, quanto de armazenamento antes do uso desta matéria-prima, são fundamentais para assegurar as baixas contagens microbiológicas e consequentemente a qualidade e segurança do produto, garantindo dessa forma a segurança alimentar.

4 I CONCLUSÕES

A obtenção de CMS é uma tecnologia de aproveitamento racional de subprodutos comestíveis, com a obtenção de uma matéria-prima de qualidade, funcionalidade e de custo relativamente baixo. Apresenta extensa aplicação em industrializados cárneos cozidos, possibilitando a oferta de fontes proteicas com preços mais acessíveis à população (OLIVO, 2006).

É de suma importância, a qualidade microbiológica desta matéria-prima, para que tenhamos produtos finais de boa qualidade. As amostras de CMS analisadas, produzidas na região de Oeste de Santa Catarina, encontravam-se em sua grande maioria dentro dos padrões microbiológicos preconizados, porém é necessário realizar acompanhamentos e controles de processo bem como novos estudos afim de investigar a qualidade desse produto.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução – RDC nº 12, de 2 de Janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.**

AOAC Official Method 2011.03 19th Edition, 2012. Chapter 16, p. 8-11. VIDAS ® Salmonella (SLM) Easy Salmonella Method.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada, de mortadela, de lingüiça e de salsicha. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Diário Oficial da República Federativa do Brasil**,** Poder Executivo, Brasília, DF, 5 abr. 2000. Seção 1, p. 6-10.

CARVALHO, Angela de F. Bnazatto; CORTEZ, Ana L. Lordello; ***Salmonella* spp.. em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango**. Ciência Rural, Santa Maria, v.35, n.6, p. 1464 – 1458, 2005.

FRANCO, Bernadette; LANDGRAF, Mariza; **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2005.

ISO 6579-1:2014 Microbiology of food chain – **Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella** – Part 1: Detection of Salmonella spp.

ISO 6888-1:1999 Microbiology of food and animal feeding stuffs – **Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species)** - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.

ISO 7937:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs – **Horizontal method for the enumeration of Clostridium perfringens** – Colony-count technique;

LAWRIE, R.A; **Ciência da carne**. Porto alegre: Artmed, 2005.

MÓRI, Cleusa et al. **Carne de aves separada mecanicamente**. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ®, ISSN 1695-7504, Vol. VII, nº 04, Abril/2006 Disponível em: http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040406/040602.pdf acessado em: 18/10/2019.

NUNES, P. T. Efeito da pré-cura na estabilidade microbiológica da carne mecanicamente separada e elaboração de um produto reestruturado de filés de peito de galinhas de descarte. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, 2003. 117 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade de São Paulo, 2003.

OLIVO, Rubison; **O Mundo do Frango: cadeia produtiva da carne de frango**. Criciúma: Editora do Autor, 2006.

ROSSI, Oswaldo Durival Junior; GARCIA, Teresa Cristina Lopes Fernandes; **Avaliação da qualidade microbiológica de carnes mecanicamente separadas de origem avícola obtidas por dois processos de produção.** Ciência Veterinária, São Paulo, v.14, n.13, p. 133 – 138, 2007.

SANTOS, André Luis dos et al; ***Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar**. J Bras Patol Med Lab., v.43, n.6, p. 413 – 423, 2007.

TRINDADE, Marco Antonio et al; **Estabilidade oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidantes durante período de armazenamento a –18 °C**. Ciênc. Tecnol. Alimentos, Campinas, v.28, n.1, p.160-168, 2008.

CAPÍTULO 11

CONSTRUÇÃO DE UM PROTÓTIPO E SIMULAÇÃO DE DIAGRAMA DE FASES 3D PARA SUBSTÂNCIAS PURAS

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 23/03/2021

Dhayna Oliveira Sobral
Universidade Federal do Tocantins
Palmas – TO
http://lattes.cnpq.br/3264767555878788

Lina María Grajales
Universidade Federal do Tocantins
Palmas – TO
http://lattes.cnpq.br/3869745078999097

RESUMO: A utilização de meios computacionais no ensino, para visualização dos diagramas de fases das substâncias puras é limitada a representações bidimensionais, restringindo a interpretação dos dados a duas variáveis (pressão e temperatura ou pressão e volume ou temperatura e volume). Isto dificulta o entendimento dos processos, uma vez que, por definição, a pressão pode ser determinada em função da temperatura e volume relacionando as três variáveis simultaneamente. Assim, a análise de uma superfície *PvT* é útil para mostrar as relações gerais entre as três fases da matéria a partir do estudo de propriedades da substância no estado de saturação, ponto crítico, dentre outras. Neste trabalho, foi construído um protótipo e feita uma simulação do diagrama tridimensional correspondente às substâncias puras, aperfeiçoando a visualização e entendimento dos processos envolvidos para futura aplicação nas disciplinas de Termodinâmica I e II. Para isto, o protótipo foi esculpido sobre um cubo de gesso de 40cm de aresta com auxílio de um martelo e lâminas de aço. A superfície foi polida, lixada e pintada para dar os acabamentos similares aos do modelo 3D. Para a simulação da superfície *PvT* utilizou-se o *Microsoft Excel* como ferramenta, com suporte de dois suplementos: XSEOS e OCTOPUS, mostrando-se como alternativa viável para representação dos dados. Tanto os gráficos bidimensionais quanto as superfícies tridimensionais foram analisados. A Equação de estado de Peng-Robinson foi a que melhor representou a relação entre P, *v* e T para a água pura. As análises possibilitaram o estudo do comportamento volumétrico das isotermas sendo o protótipo um auxiliar à análise integral da superfície *PvT* esperada.

PALAVRAS-CHAVE: Processos termodinâmicos, Equações de Peng-Robinson, Variáveis de Estado; Substâncias Puras, Superfície *PvT*.

CONSTRUCTION OF A PROTOTYPE AND SIMULATION OF 3D PHASE DIAGRAM FOR PURE SUBSTANCES

ABSTRACT: The use of computational means in teaching, to view the phase diagrams of pure substances is limited to two-dimensional representations, restricting the interpretation of the data to two variables (pressure and temperature or pressure and volume or temperature and volume). This makes it difficult to understand the processes, since, by definition, pressure can be determined as a function of temperature and volume by relating the three variables simultaneously. Thus, the analysis of a

PvT surface is useful to show the general relationships between the three phases of matter from the study of properties of the substance in the state of saturation, critical point, among others. In this work, a prototype was built and a simulation of the three-dimensional diagram corresponding to the pure substances was made, perfecting the visualization and understanding of the processes involved for future application in the disciplines of Thermodynamics I and II. For this, the prototype was sculpted on a plaster cube with a 40cm edge with the help of a hammer and steel blades. The surface was polished, sanded and painted to give finishes similar to those of the 3D model. For the simulation of the *PvT* surface, Microsoft Excel was used as a tool, with the support of two supplements: XSEOS and OCTOPUS, showing itself as a viable alternative for data representation. Both two-dimensional graphics and three-dimensional surfaces were analyzed. The Peng-Robinson equation of state was the one that best represented the relationship between *P*, *v* and *T* for pure water. The analyzes made it possible to study the volumetric behavior of the isotherms, the prototype being an aid to the integral analysis of the expected *PvT* surface.
KEYWORDS: Thermodynamic processes, Peng-Robinson equations, State variables, Pure Substances, *PvT* surface.

1 I INTRODUÇÃO

O estudo da termodinâmica vem, ao longo dos anos, se tornando cada vez mais importante para o melhor entendimento dos fenômenos ocorridos em processos de pequenas ou grandes escalas. Para a Engenharia de Alimentos, o conhecimento de como se comportam os parâmetros físico-químicos, em particular os três equilíbrios entre fases (líquido-líquido, sólido-líquido e líquido-vapor), são considerados essenciais para a compreensão das operações unitárias como destilação, extração líquido-líquido, extração sólido-líquido, calorimetria, cristalização, evaporação, entre outros, além de experimentos que relacionam propriedades de substâncias puras e de misturas (ALENCAR REIS et al., 2017). De forma genérica, a termodinâmica do equilíbrio de fases procura estabelecer relações que permitam compreender o comportamento observado quando há duas ou mais fases em contato.

Por meio da regra das fases observa-se que o estado de um gás puro depende de duas das variáveis de estado intensivas independentes (SMITH e VAN NESS, 2007). Quando três destas variáveis de estado estão relacionadas, usualmente pressão (P), temperatura (T) e volume molar (v), tem-se uma equação de estado (EDE). Dessa forma, uma EDE representa a expressão matemática que define a relação entre as propriedades pressão, temperatura e volume molar da substância a ser estudada. A partir dela é possível obter informações para qualquer uma das três grandezas *PvT* como função das outras duas em uma expressão do tipo $v = f\,(T, P)$.

As equações de Peng-Robinson e Soave são preferíveis em simulações e cálculos de equilíbrio uma vez que são de fácil implementação, baixo recurso computacional exigido, adequadas para sistemas binários e multicomponente e requerem somente propriedades

críticas e fator acêntrico das substâncias para serem utilizadas. Usualmente, a realização da estimativa das propriedades de uma substância por meio de uma equação de estado demanda grande quantidade de cálculos. Em função disso, estudos buscam analisar o equilíbrio líquido-vapor e comportamento volumétrico das isotermas para uma substância pura a partir de uma EDE com auxílio de um programa de computador que não demande recursos computacionais excessivos.

O *Microsoft Excel* é um programa de planilhas eletrônicas pertencente ao pacote *Microsoft Office* amplamente utilizado em diversos ramos da Engenharia. Trata-se de um *software* amplamente disponível a baixo custo com recursos e suplementos gratuitos que permitem a resolução de problemas complexos de forma simples, como é o caso do cálculo de propriedades termodinâmicas a partir das equações de estado.

2 I OBJETIVOS

Simular o comportamento da superfície *PvT* para água e construir um protótipo da superfície que representa o comportamento da maioria das substâncias puras a fim de ser aplicado nas aulas das disciplinas de Termodinâmica I e II, facilitando a visualização e entendimento dos processos termodinâmicos envolvidos.

3 I MATERIAL E MÉTODOS

Visando atingir o objetivo geral deste trabalho, a metodologia foi desenvolvida em duas etapas diferentes: (1) construção do protótipo, (2) modelagem e simulação da superfície *PvT* da água pura conforme o apresentado no fluxograma da Figura 1.

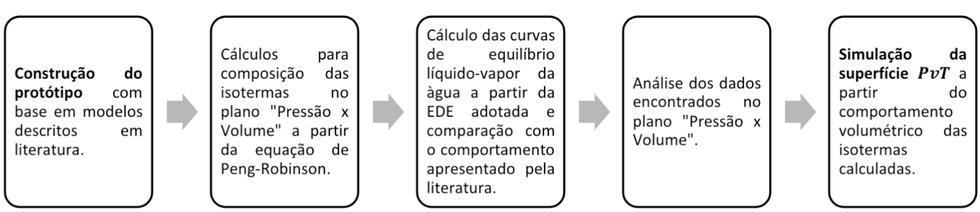


Figura 1 – Fluxograma da metodologia adotada para o estudo.

Fonte: Autor 2020.

4 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Construção do protótipo

O contorno de superfície do protótipo construído, na Figura 2a, foi feito sem referência específica e com base no comportamento da maioria das substâncias puras

uma vez que exibem o mesmo comportamento geral. As fotografias das Figuras 2c e 2d são representações esquemáticas dos planos “Pressão x Volume” e “Pressão x Temperatura”, os quais são os mais abordados no estudo da termodinâmica. Esse protótipo será utilizado no ensino do comportamento *PvT* das substâncias puras quando retomadas as aulas presenciais.

De forma geral, é possível observar que a fase sólida se encontra a baixas temperaturas e ocupa menor volume em comparação as outras duas fases; requer maior temperatura para alcançar a fase líquida que é um estado intermediário; e a fase de vapor é possível ser encontrada a qualquer temperatura dependendo da pressão exercida sob o sistema. Também é possível observar as transições: sólido-líquido, sólido-vapor e líquido-vapor. Encontra-se o ponto crítico, em que a diferença de volume entre a fase líquida e vapor tende a zero, chegando a uma região de fluido em que as características de ambas as fases se confundem. Por fim, encontra-se também o ponto triplo no qual as três fases ou estados físicos da substância coexistem em equilíbrio. A Figura 2b mostra os pontos característicos identificados no diagrama.

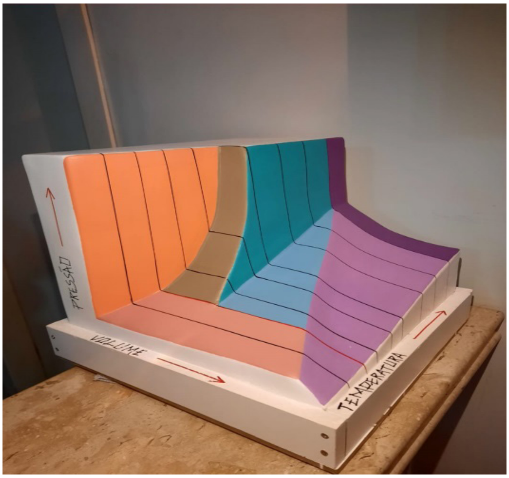


Figura 2a – Protótipo da superfície

Fonte: Autor 2020.

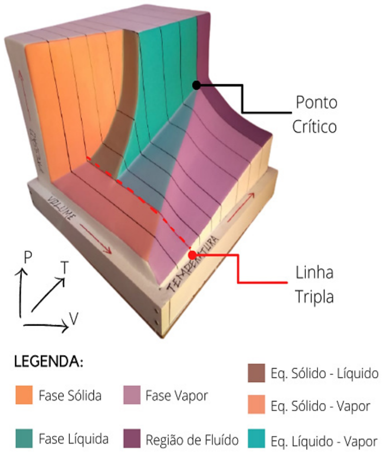


Figura 2b - Identificação das regiões características da superfície

Fonte: Autor 2020.

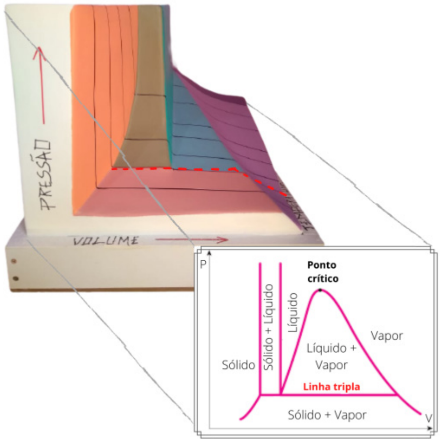


Figura 2c – Projeção do plano “Pressão x Volume”

Fonte: Autor 2020.

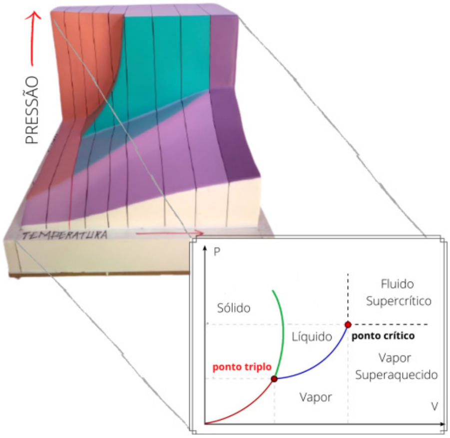


Figura 2d – Projeção do plano “Pressão x Temperatura”

Fonte: Autor 2020.

Para substâncias puras qualquer propriedade termodinâmica pode ser escrita como função de duas outras propriedades independentes, que de acordo com a Regra de Gibbs, são suficientes para conhecer o estado em que a substância se encontra. No protótipo desenvolvido fica evidente a relação como duas coordenadas obrigatoriamente determinam outra grandeza, seja ela temperatura, pressão ou volume específico. No entanto, de acordo com Angelo e Moreira (2001), a representação esquemática em 3D (desenho) não é completamente explicativa, pois, ainda trata com limitações do modo de construção em duas dimensões (gráficos), onde muitas características não são evidentes e encontram-se ocultas ou imperceptíveis. Verifica-se ainda que embora que seja utilizado o recurso da perspectiva, Angelo e Moreira (2001) relataram a presença de regiões que geram ambiguidades nas interpretações, como concavidades que não podem ser distinguidas – um exemplo é a região próxima ao ponto crítico. O modelo físico representado pelo protótipo é capaz de suprimir essas impertinências possibilitando uma clara visualização de todos os processos envolvidos. Os autores também observaram que a construção de um modelo físico é uma ferramenta didática importante no ensino da termodinâmica e concluíram que o modelo é capaz de introduzir os conceitos muito mais facilmente do que os gráficos, não se detendo nas dificuldades características deles, eliminando as dúvidas mais frequentes quando da apresentação da teoria.

4.2 Modelo e simulação

As equações de estado são capazes de representar o comportamento *PvT* de uma substância pura a partir da incorporação de parâmetros que levam em consideração desvios da idealidade. A equação de Peng-Robinson (1976) utiliza as propriedades críticas

de cada substância, ou seja, até que ponto duas fases podem coexistir sem que saia da condição de equilíbrio permitindo melhor estimativa do volume molar. Além disso, está entre as equações de estado de uso mais disseminado na indústria para simulação e modelagem termodinâmica de processos, devido a sua eficiência, simplicidade e facilidade de resolução (LEAL, 2012). Dessa forma, foi selecionada essa equação no desenvolvimento do presente estudo. O processo de construção das isotermas é demonstrado na Figura 3.

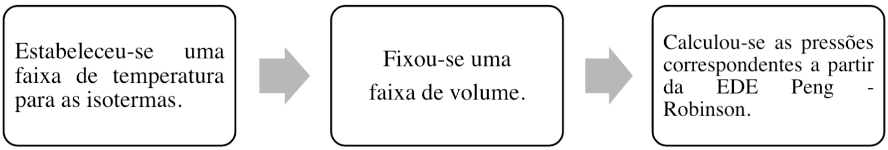
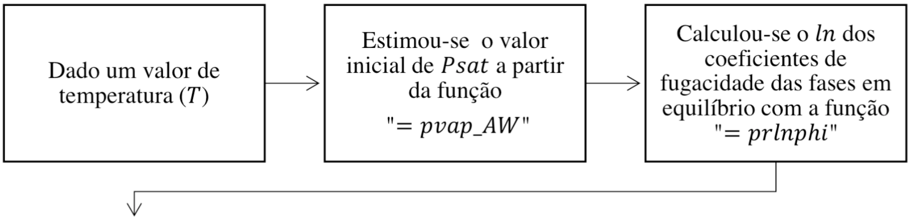


Figura 3 – Fluxograma de construção das isotermas

Fonte: Autor 2020.

Os pontos encontrados foram representados em um gráfico “Pressão x Volume” que foi devidamente ajustado para melhor visualização das informações, conforme mostrado na Figura 5. Para o cálculo dos dados do equilíbrio líquido-vapor a partir da EDE de Peng-Robinson foram utilizados os suplementos XSEOS e OCTOPUS. Foram estabelecidos 50 pontos entre a temperatura do ponto triplo (273,15 K) até o ponto crítico (647,10K). Para dar início ao cálculo estimou-se a pressão de vapor, ou pressão de equilíbrio do sistema. Essa estimativa foi realizada com auxílio do suplemento OCTOPUS, desenvolvido por EVANGELISTA et al. (2016), que possui 19 métodos disponíveis para estimativa da pressão de vapor. Para esse estudo, a partir das propriedades da água utilizou-se o método de Ambrose e Walton (1989), pois ele permite a estimativa da pressão de saturação levando em consideração apenas o fator acêntrico, pressão crítica, temperatura crítica e a temperatura do sistema. O fluxograma do processo está representado na Figura 4 a seguir:



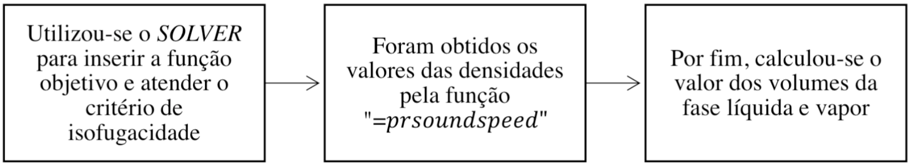


Figura 4 – Fluxograma de construção das curvas de saturação calculada

Fonte: Autor 2020.

O critério de equilíbrio líquido – vapor pressupõe uma igualdade de temperatura e pressão entre as duas fases. Sabendo-se que a fugacidade da substância é função apenas da temperatura e pressão em que ela se encontra deduz-se que o equilíbrio é equivalente à igualdade da fugacidade das fases. Analisando os coeficientes de fugacidade foram rearranjadas as equações para se assemelhar ao método introduzido no suplemento XSEOS e calcular as condições de equilíbrio do sistema. Assim sendo, o equilíbrio entre as fases sólido e líquido só existe se a relação entre o *In* dos coeficientes de fugacidade forem iguais uma vez que os dados evoluem de forma exponencial. Para garantir esse critério de isofugacidade fez-se uso da ferramenta *SOLVER* - própria do Excel para análise de dados- de modo a introduzir uma função objetivo (Equação 1) capaz de zerar o módulo da diferença entre os valores calculados variando o valor da pressão de saturação estimada e encontrando um novo valor que represente a real condição de equilíbrio.

$$F_{obj} = \sum_{i=1}^{N} |\ln \varphi_i^L - \ln \varphi_i^V| \qquad (1)$$

Posteriormente, calculou-se a densidade e o volume específico da região de líquido e vapor saturado a partir de funções do XSEOS. Evangelista *et al*. (2016) ao analisar o uso da ferramenta na resolução de problemas de equilíbrio de fases aponta que, dessa forma, apesar de ser uma ferramenta potencial, os cálculos não são efetuados de forma totalmente automática priorizando seu aspecto didático. A fim de aferir a precisão dos métodos utilizados, valores de propriedades do livro do VAN WYLEN (2013) foram utilizados. A partir dos dados calculados foram obtidas as coordenadas do ponto crítico calculadas sendo obtida pressão crítica (*Pc*) equivalente a 22,055 MPa e volume crítico (*Vc*) igual a 78,3956 cm³/mol para temperatura crítica (*Tc*) sendo 647,10 K. Para água pura tem-se para *Tc*= 647,10 K, Vc= 55,9546 cm³/mol e Pc = 22,064 Mpa. A vista disso é possível perceber que houve um pequeno desvio entre os valores do volume crítico decorrente de diferenças nos valores das propriedades termofísicas utilizadas para o cálculo. É válido ressaltar que

o presente estudo se trata de uma análise não quantitativa e os valores da literatura são adotados apenas como referência ao comportamento que, para o caso, apresentaram comportamentos similares.

Todos os valores das propriedades obtidos foram igualmente relacionados no plano "Pressão x Volume" como demonstra a Figura 5.

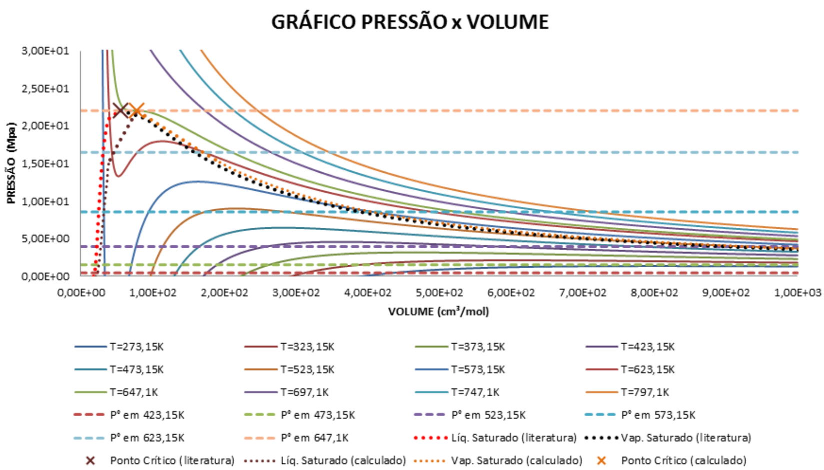


Figura 5 – Representação dos dados no plano "Pressão x Volume"

Fonte: Autor 2020.

No plano representado, foram traçadas também linhas de pressão de saturação uma vez que a condição de equilíbrio estabelece que a mudança de fase ocorre à temperatura e pressão constantes. Assim sendo, ainda que uma isoterma subcrítica forneça três valores de raízes oriundos da equação cúbica, o valor intermediário não apresenta significado físico. Santos (2019) em um estudo da determinação da pressão de vapor de espécies químicas utilizadas na indústria de alimentos a partir do uso do Excel descreveu que para isotermas supercríticas (T>Tc) são obtidos apenas um valor de volume correspondente a cada pressão. Já para isotermas críticas (T=Tc) a equação cúbica obtém três raízes reais e idênticas. O mesmo comportamento descrito pode ser observado na Figura 5.

Baseado no comportamento volumétrico das isotermas traçadas a partir da EDE de Peng Robinson buscou-se simular a superfície *PvT* da água pura dada às condições de equilíbrio líquido - vapor respeitando as limitações apresentadas pelo modelo matemático. Para tal, utilizou-se o Excel para manipulação dos dados. Devido à complexidade da construção da superfície tridimensional que seja fiel ao modelo representado na Figura 2a, neste trabalho apenas foram analisadas as fases líquida e vapor das substâncias (bem como a região de saturação), não interessando o estado sólido e as regiões de equilíbrio

sólido-líquido e sólido-vapor envolvido. A superfície obtida é representada na Figura 6 com as devidas configurações dos eixos para melhor visualização.

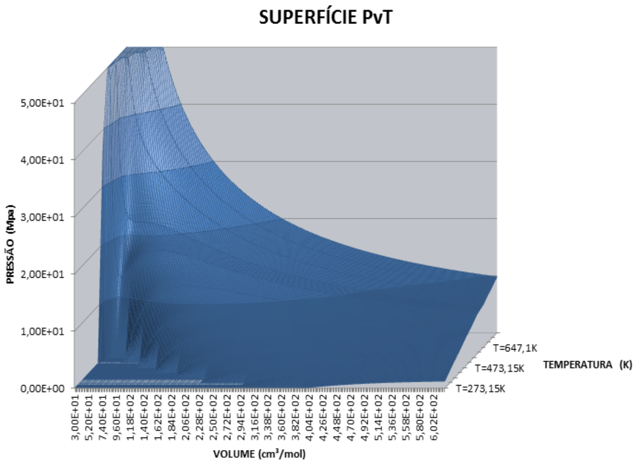


Figura 6 – Simulação da superfície a partir do equilíbrio líquido - vapor

Fonte: Autor 2020.

TARDOLI (2013) afirma que a maioria das equações geralmente representa bem os trechos da superfície *PvT* para substâncias de fórmula molecular semelhante. Assim sendo, por meio da superfície representada com base nos dados apontados nesse estudo abrange bem as regiões de líquido e vapor.

5 I CONCLUSÃO

O estudo do diagrama de fases e o entendimento dos processos envolvidos são de suma importância para a compreensão de operações com sistemas mais complexos. O protótipo desenvolvido facilita a compreensão dos fenômenos em condições ideais e consequente assimilação dos conteúdos previstos na ementa do curso de Termodinâmica I e II.

O *Software Excel* da *Microsoft* se mostrou como uma ferramenta adequada ao estudo proposto, permitindo boa análise de gráficos bidimensionais, além de possuir recurso para visualização de superfícies tridimensionais. Os suplementos de *Excel* utilizados facilitaram os cálculos da região de equilíbrio líquido-vapor priorizando o aspecto didático.

A equação de Peng-Robinson foi a que melhor se ajustou ao modelo proposto. A análise de uma superfície *PvT* é útil para mostrar as relações gerais entre as variáveis de estado a partir do estudo do estado de saturação e ponto crítico da substância.

REFERÊNCIAS

ALENCAR REIS, A. R. et al. **Estudo experimental dos equilíbrios entre fases com aplicação computacional para o ensino de termodinâmica para engenharia.** 4. ed. Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, 2017. 12 p.

ANGELO, Edvaldo; MOREIRA, José Roberto Simões. **Utilização de uma superfície termodinâmica Pressão – Volume específico – Temperatura no ensino da termodinâmica.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENSINO DE ENGENHARIA, XXIX, 2001, Porto Alegre – RS.

EVANGELISTA, Nathan Sombra. **Termodinâmica: o uso da ferramenta XSEOS na resolução de problemas de equilíbrio de fases.** Ceará, 2016. 48 p.

LEAL, Denise dos Santos. **Avaliação de equações de estado no cálculo de propriedades do dióxido de carbono úteis ao estudo do seu escoamento.** 280 f, Cap 2 . Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Industrial, UFBA – Salvador, 2012.

SANTOS, Elyson José Neves dos. **Determinação da pressão de vapor de espécies químicas utilizadas na indústria de alimentos utilizando a plataforma EXCEL**. 57 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns - PE, 2019.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M. **Introdução à termodinâmica da engenharia química.** 7. ed. Rio de Janeiro: Ltd, 2007. 626 p.

PLIEGO JR., Josefredo R. **Construção da curva de equilíbrio líquido-vapor usando uma equação de estado cúbica: uso do EXCEL no ensino de físico-química. Quím. Nova**, São Paulo, v. 39, n. 5, p. 641-645, Junho 2016. http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160038.

TARDIOLI, Paulo Waldir. **Termodinâmica para engenharia**: **um curso introdutório.** São Carlos - SP: Departamento de Produção Gráfica – UFSCAR, 2013. 215 p.

WYLEN, G.V., SONNTAG, R. & BORGNAKKE, C. **Fundamentos da termodinâmica.** São Paulo: Editora Edgard Blücher, 8ª Edição – 2013.

CAPÍTULO 12

FICHA TÉCNICA DE PREPARO (FTP): UMA FERRAMENTA DE PADRONIZAÇÃO PARA NOVOS PRODUTOS À BASE DE PESCADO

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 05/02/2021

Kátia Alessandra Mendes da Silva
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. Departamento de Tecnologia de Alimentos
Seropédica-Rio de Janeiro
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Hospital Universitário Gaffrée e Guinle. Divisão de Nutrição e Dietética
Rio de Janeiro-Rio de Janeiro.
http://lattes.cnpq.br/1477529535162564

Daniele Regis Pires
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. Departamento de Tecnologia de Alimentos
Seropédica-Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/3567444491018587

Amanda Lima Albuquerque Jamas
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Instituto de Tecnologia
Seropédica-Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/4890057759969587

Elizete Amorim
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. Departamento de Tecnologia de Alimentos
Seropédica-Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/3804394436729741

Gesilene Mendonça de Oliveira
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Seropédica-Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/8045925494960939

RESUMO: A ficha técnica de preparo (FTP) é uma ferramenta gerencial e funcional utilizada nos serviços de alimentação. A área de Ciência e Tecnologia de Alimentos (C&TA) tem como referência de suas pesquisas o desenvolvimento de produtos alimentícios para atender as mais diversas finalidades, onde também são utilizados dados técnicos, equipamentos e utensílios, alguns muitos complexos e sofisticados, que tal qual a FTP, porém são coletados e armazenados muitas vezes de forma segregada. O objetivo desse trabalho foi elaborar uma FTP utilizando uma formulação aleatória de *fishburguer* de modo a ter todas as informações relevantes, consolidadas em um único formulário, e assim otimizar a leitura e entendimento das formulações dos produtos alimentícios. Concluiu-se que a adoção da FTP pode favorecer as etapas do desenvolvimento de novos produtos, bem como suas reformulações, visto que as informações prioritárias encontravam-se em um único local, facilitando a leitura e interpretação da formulação.
PALAVRAS-CHAVE: Alimento, peixe, tecnologia, laboratório.

TECHNICAL PREPARATION SHEET (TPS): A STANDARDIZATION TOOL FOR NEW FISH PRODUCTS

ABSTRACT: The preparation of technical specifications (PTS) is a management and functional tool used in food service. The area of Food Science and Technology (S & TA) has reference to his research the development of food products to meet the diverse purpose, which are also used technical data, equipment and utensils, some many complex and sophisticated, such that PTS, but they are collected and stored often segregated. The aim of this study was to develop an PTS using a random formulation fishburguer to take all relevant information, consolidated into a single form, and thus optimize the reading and understanding of the formulation of food products. It was concluded that the adoption of PTS may favor the stages of development of new products, and its revisions, as the priority information were in one place, facilitating the reading and interpretation of the formulation.
KEYWORDS: Food, fish, tecnology, laboratory.

1 | INTRODUÇÃO

A Ficha Técnica de Preparo (FTP), também denominada de receituário padrão (Domene, 2011), é uma ferramenta gerencial e funcional utilizada nos serviços de alimentação (hotéis, restaurantes comerciais ou institucionais, laboratórios de desenvolvimento de produtos, etc.), cuja utilidade está na padronização das preparações, permitindo a reprodutibilidade das mesmas por qualquer profissional (Akutsu et al., 2005; Japur et al., 2012).

Fonseca (2011) aponta algumas vantagens na utilização da FTP como: (i)· registrar quantidades de matéria-prima utilizadas nas preparações; (i) padronizar quantidades de matéria-prima nas preparações, a montagem e apresentação dos pratos; (iv) registrar os processos da produção; (v) manter um histórico das preparações do restaurante; (vi) permitir a comparação das informações de consumo; (vii) facilitar as projeções de compras e especificações de mercadorias, e (viii) controlar os volumes de matéria-prima requisitados.

Lustosa et al. (2010), chamam a atenção para o fato de que a FTP também protege e conserva o meio ambiente, uma vez que se evita o desperdício de recursos.

Relevante também o fato de a FTP ser extremamente versátil, o que permite a inclusão ou exclusão de itens de acordo com o objetivo a ser atingido, devendo ser simples e de fácil utilização para apoiar na tomada de decisões, na orientação e coordenação operacional (Fonseca, 2011; Japur et al., 2012).

Para o desenvolvimento regular de uma FTP é imprescindível a existência de balança e outros instrumentos de medidas calibrados, com capacidade adequada para pesar os ingredientes e a preparação (Japur et al., 2012). A FTP deve possuir em sua estrutura dados técnicos e peculiares de acordo com a preparação ou produto a ser elaborado.

A área de Ciência e Tecnologia de Alimentos (C&TA) tem como referência em suas pesquisas o desenvolvimento de produtos alimentícios para atender as mais diversas

finalidades. Para tal, também são utilizados dados técnicos ingredientes, equipamentos e utensílios, alguns muitos complexos e sofisticados, que são coletados e armazenados em forma de planilhas, relatórios, etc., porém, muitas vezes de forma segregada.

Ao longo dos anos, autores vêm elaborando diversos produtos, oriundos de resíduos comestíveis do pescado, bem como de espécies subutilizadas, de baixo e/ou sem valor comercial no mercado, agregando valor ao produto e favorecendo o pescador artesanal (Neiva et al.,2011; Mello et al., 2012.; Mitterer-Daltoé et al., 2012).

O objetivo desse trabalho foi utilizar a FTP de modo a ter todas as informações relevantes, consolidadas em um único formulário, e assim otimizar a leitura e entendimento das formulações dos produtos alimentícios.

1.1 Estrutura da FTP

A FTP não tem um modelo específico, devido a sua flexibilidade e objetivo do serviço de alimentação. Em geral os principais dados técnicos utilizados são (Akutsu et al., 2005, Canotilho, 2006, Souza e Bezerra, 2011):

- nome técnico e ou fantasia da preparação/produto;
- medida caseira;
- unidade de medida;
- *per capita* (quantidade crua do alimento por pessoa);
- peso bruto (alimento na sua forma integral, ou seja, com casca, semente, etc.);
- peso líquido (alimento após pré-preparo, ou seja, sem casca, sem semente, etc.);
- fator de correção (obtido pela divisão do peso bruto pelo peso líquido);
- fator de cocção/térmico;
- composição centesimal em macro e micronutrientes do produto/preparação;
- rendimento;
- número de porções;
- forma de pré-preparo e preparo;
- utensílios e equipamentos, entre outros.

Embora já existam no mercado softwares que otimizem a sua execução, é primordial que se tenha o entendimento da elaboração da FTP, Japur et al. (2012) apresentam entre outros entraves relevantes para a implantação e implementação da FTP, pesar os ingredientes, padronizar os utensílios, transformar o peso dos ingredientes em medidas caseiras, sensibilizar e capacitar a equipe para sua execução.

2 I MATERIAL E MÉTODOS

Elaborou-se um modelo de FTP tendo como base a escolha aleatória de uma formulação de um fishburguer, desenvolvido à base de pescado marinho de baixo valor comercial, capturado na Baía de Sepetiba, RJ. As informações presentes na FTP foram coletadas da formulação elaborada por Pires (2015).

Os ingredientes, quantidades e os dados técnicos utilizados na formulação em questão, encontram-se descriminados na Tabela 1.

<table>
<tr><td colspan="2">Nome
Fishburguer</td><td colspan="2">Data
00/00/000</td><td colspan="2">Responsável
UFRRJ</td></tr>
<tr><td>Ingredientes</td><td>Medida Caseira</td><td>Unidade (Kg/L)</td><td>Peso Bruto (g)</td><td>%</td><td>Custo (R$)</td></tr>
<tr><td>Carne triturada de peixe (CTP)</td><td>-</td><td>g</td><td>810</td><td>81</td><td>3,40</td></tr>
<tr><td>Fécula de mandioca</td><td>2 colheres de sopa</td><td>g</td><td>50</td><td>5</td><td>0,50</td></tr>
<tr><td>Água gelada</td><td>-</td><td>mL</td><td>100</td><td>10</td><td>0,05</td></tr>
<tr><td>Sal refinado</td><td>1 colher de café</td><td>g</td><td>10</td><td>1</td><td>0,02</td></tr>
<tr><td>Alho em pó</td><td>1 colher de café</td><td>g</td><td>10</td><td>1</td><td>0,90</td></tr>
<tr><td>Cebola em pó</td><td>1 colher de café</td><td>g</td><td>10</td><td>1</td><td>0,26</td></tr>
<tr><td>Pimenta-do -reino branca</td><td>1 colher de café</td><td>g</td><td>10</td><td>1</td><td>1,46</td></tr>
<tr><td colspan="3">Total</td><td>1.000</td><td>100</td><td>6,59</td></tr>
<tr><td colspan="6">Utensílios e Equipamentos
Balança, copo medidor, bandeja plástica retangular, hamburgueira manual, colher de café, colher de sopa.</td></tr>
<tr><td colspan="6">Modo de Preparo
1. Unir todos os ingredientes e homogeneizar a massa manualmente por aproximadamente um minuto até a obtenção da liga adequada (até soltar das mãos).
2. Deixar a massa repousar, sob refrigeração, por aproximadamente uma hora (1h).
3. Posteriormente, moldar a massa em formato de fishburguer (forma de disco) com auxílio de hamburgueira manual.
4. Grelhar em grill por 15 minutos, virando a cada 3 minutos.</td></tr>
<tr><td colspan="3">Rendimento total
830g</td><td colspan="3">Valor calórico da porção
138 kcal</td></tr>
<tr><td colspan="2">Total de porções
8 unid</td><td>Peso porção
100g</td><td colspan="2">Medida caseira
1 unid.</td><td>Valor da porção
R$ 0,66</td></tr>
</table>

Tabela 1. Modelo de FTP elaborado para a formulação de *fishburguer*.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve dificuldade em se localizar e associar as informações referentes à formulação escolhida e a transcrição das mesmas mostrou-se um pouco trabalhosa, para a elaboração da FTP, afirmando a justificativa de que o armazenamento dos dados em locais distintos intrinca o acesso dos mesmos. Mas, foi possível atender grande parte dos dados técnicos que em geral constituem a FTP.

A discriminação das etapas permite que a execução das atividades ocorra em tempo apropriado, e a verificação da eficácia do sistema, conforme apontado por Mello (2002) e Baker (2002).

Vale esclarecer que o número de porções equivale ao *fishburguer* pronto para consumo. Caso fosse considerado a porção crua de 100g o número iria para 10 porções. Esse número pode variar de acordo com o tamanho da hamburgueira utilizada.

Os valores monetários tiveram como base os praticados no mercado. Exceto, a CTP que teve seu valor estimado pois originou-se de espécies sem valor comercial.

A FTP desenvolvida ainda poderia ser complementada com informações adicionais como a importância do uso da água gelada para que não ocorra aumento da temperatura durante a mistura; utilizar um moedor de carne com disco de 0,5mm de diâmetro para conferir a textura desejada e também elimina o perigo físico da espinha do peixe, o que não se obtereia com discos em diâmetros maiores.

Além dessas informações, dicas de como adquirir o pescado com qualidade de frescor; ingredientes e temperos obtidos de fornecedores idôneos, acondicionar os ingredientes em pó em embalagens de vidro com tampa de pressão para evitar a absorção de umidade, que no caso da cebola o pó, podem se solidificar e não dissolver adequadamente no momento da mistura, mesmo na presença de água, bem como as informações nutricionais, (PIRES, 2015).

Sendo assim, a elaboração da FTP deve ser realizada de forma adequada de modo a fornecer informações e instruções claras que orientem o passo a passo, a maneira e o uso dos produtos, equipamentos e utensílios no processo de elaboração, e promover a racionalização do tempo e espaço (Vasconcellos, 2002).

4 | CONCLUSÃO

A adoção da FTP pode favorecer as etapas do desenvolvimento de novos produtos, bem como suas reformulações e cotações para aquisição de gêneros e equipamentos, visto que as informações consideradas prioritárias encontravam-se em um único local, o que facilitou a leitura e interpretação da formulação.

Reforça-se que não há um modelo único de FTP, pois a mesma deve atender às características e objetivos das formulações/preparações.

REFERÊNCIAS

AKUTSU, R. C.; BOTELHO, R. A.; CAMARGO, E. B.; SÁVIO, K. E. O.; ARAÚJO, W. C. **The technical cards as quality instrument for good manufacturing process**. *Revista de Nutrição,* 18(2), 277-279. 2005.

BAKER, D. A. Use of food safety objectives to satisfy the intent of food safety law. *Food Control*, 13, 371-376. 2002.

CANOTILHO, A. C. C.; CANDIDO, C. C. **Estudo e técnica de preparo de alimentos**. In: CANDIDO, C.C.; GOMES, C. E.T.; SANTOS, E. C.; GAMES, G. M. O.; CANOTILHO, A. C. C.; SILVA, K. G. *Nutrição: guia prático*. São Paulo: Iátria. 2006.

DOMENE. S. A. A. ***Técnica dietética*****: teoria e aplicações**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2014.

FONSECA, M. T. **Tecnologias gerenciais de restaurantes**. São Paulo: Editora Senac. 2011.

JAPUR, C. C.; PEREIRA, T. S.; VIEIRA, M. N. C. M. **Ficha técnica de preparação**. In: VIEIRA, M. N. C.; JAPUR, C. C. Gestão da qualidade na produção de refeições. Rio de Janeiro: Guanabara. 2012.

LUSTOSA, M. M. A.; BARREIROS, D. F.; BELO, N. M. C. **Ficha técnica de preparo: tecnologia mais limpa no controle do desperdício** In: *Anais do Congresso Brasileiro de Nutrição* (CONBRAN). 2010.

MELLO, C. H. P.; SILVA, C. E. S.; TURRIONI, J. B. **ISO 9001:2000 Sistema de gestão da qualidade para operações de produção e serviços.** São Paulo: Atlas. 2002.

MELLO, S. C. R. P.; FREITAS, M. Q.; CLEMENTE, S. C. S. **Development and bacteriological, chemical and sensory characterization of fishburgers made of Tilapia minced meat and surimi**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 64(5), 1389-1397. 2012.

MITTERER-DALTOÉ, M. L.; LATORRES, J. M.; CARBONERA, N.; SAINT PASTOUS-MADUREIRA, L.; QUEIROZ, M. I. **Potencial de inserção de empanados de pescado na merenda escolar mediante determinantes individuais.** Ciência Rural, 42 (11), 2092-2098. 2012.

NEIVA, C. R. P.; MACHADO, T. M.; TOMITA, R. Y.; FURLAN, E. F.; LEMOS NETO, M. J.; BASTOS, D. H. M. **Fish crackers development from minced fish and starch: an innovative approach to a traditional product**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 31(4), 973-979. 2011.

SOUZA, I. B.; BEZERRA, V. M. **Adequação de quantidades per capita em unidades produtoras de refeições**. In: ROSA, C. O. B.; MONTEIRO, M. R. P. Unidades produtoras de refeições: uma visão prática. Rio de Janeiro: Rubio. 2014.

VASCONCELLOS, F.; CAVALCANTI, E.; BARBOSA, L. **Menu: como montar um cardápio eficiente.** São Paulo: Roca. 2002.

PIRES, D. R. **Desenvolvimento de Fishburguer à Base de Pescado Marinho de Baixo Valor Comercial Capturado na Baía de Sepetiba, RJ**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica-RJ. 2015.

CAPÍTULO 13

FILMES BIOPOLIMÉRICOS COMO SUPORTE PARA NANOPARTICULAS DE PRATA: ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Data de aceite: 03/05/2021

Taís Port Hartz
Escola de Química e Alimentos
Laboratório de Catálise
Universidade Federal do Rio Grande, *Campus* Santo Antônio da Patrulha
Santo Antônio da Patrulha, RS - Brasil

Karina Rodrigues de Fraga
Escola de Química e Alimentos
Laboratório de Catálise
Universidade Federal do Rio Grande, *Campus* Santo Antônio da Patrulha
Santo Antônio da Patrulha, RS - Brasil

Carla Weber Scheeren
Escola de Química e Alimentos
Laboratório de Catálise
Universidade Federal do Rio Grande, *Campus* Santo Antônio da Patrulha
Santo Antônio da Patrulha, RS - Brasil

RESUMO: Neste trabalho foram preparados filmes biopoliméricos, combinando quitosana e carboximetilcelulose, para a obtenção de filmes com espessura de 20 μm. Foram Síntetizadas nanopartículas de Ag de diâmetro médio de 8,0 ± 0,4 nm e formato esférico, as quais foram posteriormente imobilizadas nos filmes biopoliméricos. Os filmes biopoliméricos foram caracterizados por espectroscopia de UV-VIS e microscopia eletrônica de transmissão (MET). O espectro de UV-VIS exibiu absorção em 508 nm e a análise por MET mostrou que as ananopartículas de Ag encontram-se homogeneamente dispersas sob toda a superfície do filme biopolimérico. No estudo de atividade antimicrobiana, os filmes formaram halos de inibição de 5 mm para as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli,* evidenciando com esse resultado grande eficiência na atividade antimicrobiana.
PALAVRAS-CHAVE: Filmes biopoliméricos, Nanopartículas de Ag, Líquido Iônico, Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT: In this work biopolymeric films were prepared, combining chitosan and carboxymethylcellulose, to obtain films with thickness of 20 µm. Synthetized Ag nanoparticles of 8.0 ± 0.4 nm and spherical shape were synthesized, which were later immobilized in the biopolymeric films. Biopolymeric films were characterized by UV-VIS spectroscopy and transmission electron microscopy (MET). The UV-VIS spectrum exhibited absorption at 508 nm and MET analysis showed that Ag ananoparticles are homogeneously dispersed under the entire surface of the biopolymeric film. In the antimicrobial activity study, the films formed 5 mm inhibition halos for staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria, evidencing with this result great efficiency in antimicrobial activity.
KEYWORDS: Biopolymeric films, Ag nanoparticles, Ionic Liquid, Antimicrobial activity.

1 | INTRODUÇÃO

Multidisciplinar a nanociência tem potencial de aplicação em diferentes áreas como: alimentos, biologia, física, química e

engenharia (Hochella-Júnior, 2002). A combinação de nanopartículas (NPs) metálicas e filmes biopoliméricos com atividade antibacteriana têm sido muito estudados, os quais exibem grande atividade tóxica frente a bactérias e outros microorganismos, como fungos e também o sistema humano (Stoimenov *et al. 2002*; Balogh *et al.* 2001; Kasuga *et al. 1997*). NPs metálicas são capazes de incapacitar microorganismos através da interação com algumas enzimas, proteínas e/ou DNA, inibindo a proliferação celular ou divisão celular. Para estas aplicações, NPs têm sido suportadas em biopolímeros em várias formas (por ex. cateteres, material dentário, dispositivos médicos, implantes e curativos para queimaduras) com o objetivo de proteger contra a contaminação microbiana. Existem vários biopolímeros como: quitosana, carboximetilcelulose e celulose (Ciriolo *et al.* 1994). Filmes biopoliméricos de celulose semipermeáveis foram utilizados como suporte para NPs de Pt e Ag (Edgar *et al 2001).* Entretanto, um filme polimérico pode exibir outras vantagens adicionais como um material com maior capacidade de imobilização e seletividade, redução no tamanho de partícula, prevenção da aglomeração das NPs e estabelecimento de uma região de contato poroso entre as fases líquida e gasosa com a estrutura polimérica (Viswanathan *et al.* 2006) Neste trabalho, nós demonstramos a combinação de NPs de Ag sintetizadas em líquido iônico BMI.BF_4 suportadas em filme biopolimérico de quitosana e carboximetilcelulose com investigação em atividade antimicrobiana frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. A combinação gerou a formação de um material com estrutura porosa com fácil incorporação das NPs de Ag e boa atividade antimicrobiana. Este material pode ser utilizado na fabricação de filmes antimicrobianos para embalagem de alimentos, proporcionando assim maior tempo de conservação.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Síntese de NPs de Ag em líquido iônico BMI.BF_4: uma solução contendo líquido iônico BMI.BF_4 (1 mL), Ag_2O 25 mg (0,11 mmol,) foi agitada à temperatura ambiente durante 15 min obtendo-se uma dispersão escurade de AgO_2. O sistema foi aquecido a 85 °C e hidrogênio (4 bar) foi admitido no sistema. Após duas horas, obteve-se uma dispersão escura de NPs de Ag.

Síntese da solução biopolimérica e dos filmes biopoliméricos contendo NPs de Ag suportadas: foi preparada uma solução contendo 35 mL de acetona e 2,5 g de acetato de celulose, foram preparados filmes biopoliméricos sem NPs (denominados de branco, AC) e filmes contendo 10 mg de NPs de Ag (denominados AC/Ag). A solução foi vertida em placa de Petri formando os filmes biopoliméricos.

Investigação da atividade antimicrobiana frente às bactérias *S. aureus* e *E. coli:* Estas experiências foram realizadas num meio de Luria-Bertani (LB) Agar sólido em uma placa de Petri. Os filmes biopoliméricos liofilizados foram cortados em forma de disco de 1,5 cm de diâmetro, esterilizados por Autoclave durante 15 minutos a 120 °C, e

colocados em uma placa de Agar contendo bactérias *E. coli*- cultivadas e em outra placa Agar de bactérias *S. aureus*- cultivadas. As placas de Petri foram colocadas em incubadora durante 24 h a 37 °C para formação dos halos de inibição bacteriana.

3 I ANÁLISES REALIZADAS

Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis): O espectro eletrônico da dispersão coloidal de NPs de Ag foi realizado utilizando-se um Espectrofotômetro UV-visível modelo UV-2550 da Shimadzu, com leituras na região de 190 a 800 cm^{-1}, com celas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET): A análise de MET das NPs de Ag foi realizada utilizando-se um microscópio JEOL JEM1200EXII operando em 120 kv. Os histogramas da distribuição foram obtidos usando o programa Origin 8, através da medida do diâmetro de aproximadamente 300 nanopartículas de Ag.

4 I RESULTADOS E DISCUSSÕES

A síntese das NPs de Ag coloidal está relacionada à redução do Ag^{2+} para Ag^0 pela ação do hidrogênio molecular como agente redutor, resultando na formação de NPs que possuem rede cúbica de face centrada (fcc). Os íons Ag^{2+} são introduzidos ao meio reacional a partir do óxido de prata (Ag_2O). As técnicas de caracterização utilizadas, ultravioleta-Visível (UV-Vis), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) nos fornecem informações a respeito do tamanho, forma e composição das NPs de Ag e dos filmes biopoliméricos. Na Figura 1 está representado o espectro da solução de NPs de Ag, obtidas no experimento, por espectroscopia de UV-visível.

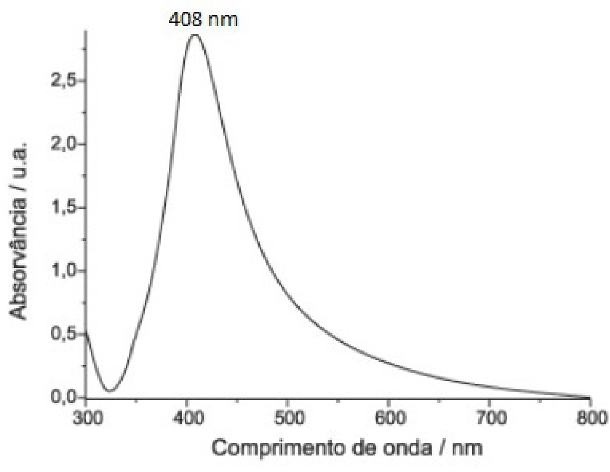


Figura 1 - Espectro de UV-vísivel da dispersão coloidal de NPs de Ag.

Observa-se que a absorção do plasmon superficial dá origem a uma banda larga, com o máximo de absorção em torno de 408 nm. As NPs de Ag obtidas também foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A micrografia e o histograma de distribuição de diâmetro médio das partículas obtidas são expostos na Figura 2. As NPs de Ag exibiram diâmetro médio de 11 ± 1,5 nm.

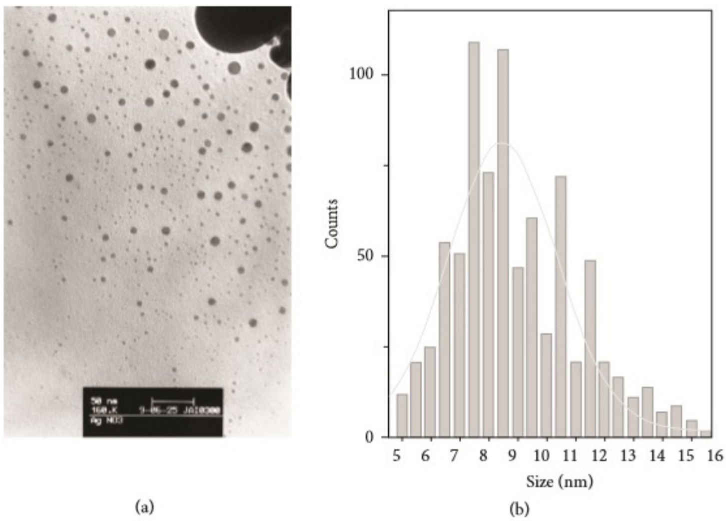


Figura 2 - Micrografia obtida por MET NPs de Ag (esquerda) e histograma de distribuição de diâmetro (direita) das NPs de Ag.

A habilidade dos filmes biopoliméricos contendo NPs de Ag suportadas em inibir o crescimento destas bactérias está exposto na Figura 3. Nos experimentos utilizamos um disco de 1,5 cm de filme biopolimérico sem a presença NPs de Ag (denominado de CS/CMC), localizado na esquerda da placa de Petri, e um disco de filme biopolimérico contendo NPs de Ag (denominado CS/CMC/Ag), localizado à direita na placa de Petri. A ação antibacteriana das NPs metálicas ocorre através da coordenação destas a camada superficial das bactérias ocasionando o rompimento da camada de peptidoglicano e consequente inativação. A camada de peptidoglicano da bactéria gram-negativa (*E.coli*) é mais fina do que nas bactérias gram-positivas (*S.aureus*), mas a atividade antimicrobiana obtida através do halo de inibição, neste caso, foi o mesmo frente às bactérias *E. coli e S. aureus (*a formação de 5 mm de halo de inibição bacteriana foram obtidos para *E. coli* e para *S. aureus*, Figura 3), (Xu *et al*. 2005).

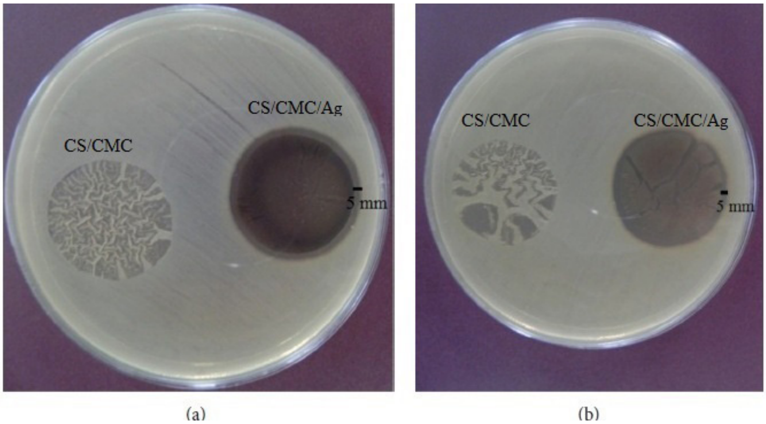


Figura 3 - Atividade dos filmes CS/CMC (filme sem NPs Ag) e CS/CMC/Ag (filme com NPs): (A) *E.coli* e (B) *S. aureus.*

5 I CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos, concluímos que a preparação de filmes biopoliméricos, combinando quitosana e carboximetilcelulose, podem ser aplicados de forma eficiente como suporte de NPs de Ag. A caracterização por MET confirmou material homogêneo e durável. O estudo da atividade antimicrobiana exibiu a formação de halos de inibição de 5 mm para as bactérias *E. coli e S. aureus*. Atualmente, uma aplicação eficiente dos filmes biopoliméricos antimicrobianos é em embalagens para maior conservação de frutas e alimentos.

REFERÊNCIAS

1. Balogh, L.; Swanson, D. R.; Tomalia, D. A.; HagnAger, G. L.; McManus, A. T.; *Nano Lett.* **2001**, 1, 18.

2. Ciriolo, M. R.; Civitareale, P.; Carri, M. T.; De Martino, A.; Galiazzo, F.; Rotilio, G.; *The Journal of Biological Chemistry* **1994**, 269, 25783.

3. Edgar, K. J.; Buchanan, C. M.; Debenham, J. S.; *Prog. Polym. Sci.* **2001**, 26, 1605.

4. Hochella-Júnior, M. F.; *Earth Planet Sci. Lett.* **2002**, 203, 593.

5. Kasuga, T.; Kume, H.; Abe, Y.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1997**, 80, 777.

6. Stoimenov, P. K.; Klinger, R. L.; Marchin, G. L.; Klabunde, K. J.; *Langmuir* **2002**, 18, 6679.

7. Viswanathan, G.; Murugesan, S.; Pushparaj, V.; Nalamasu, O.; Ajayan, P. M.; Linhardt, R. J.; *Biomacromolecules* **2006**, 7, 415.

8. Xu, J.; Dozier, A.; Bhattacharyya, D.; *J. Nanop. Res.* **2005**, *7*, 449.

CAPÍTULO 14

HIDRÓLISE DO FARELO DE SEMENTE DE JACA PARA PRODUÇÃO DE *β*-CICLODEXTRINAS POR *Bacillus* sp. SM-02

Data de aceite: 03/05/2021

Kayo Santiago Farias Novais
Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas (DCET), Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil
http://lattes.cnpq.br/6370940360424918

Adriana Bispo Pimentel
Departamento de Ciências Biológicas (DCB), Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil
http://lattes.cnpq.br/7246866330149159

Weclis Renan Koelher Braga
Programa de Pós-Graduação em Biologia e Biotecnologia de Microrganismos (PPGBBM), Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil
http://lattes.cnpq.br/5811883567379368

Marcia Luciana Cazetta
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas (CETEC), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA
http://lattes.cnpq.br/2876196501975554

Elizama Aguiar-Oliveira
Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas (DCET), Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil
https://orcid.org/0000-0001-7700-6724

RESUMO: As sementes de jaca são um resíduo agroindustrial rico em amido e as β-ciclodextrinas (β-CD) são compostos encapsulantes que podem ser produzidos a partir de amido. Neste trabalho, foram definidas as melhores condições de hidrólise termo-enzimática do farelo de semente de jaca (FSJ) como: 56,5 g/L (FSJ por volume), 15 min de autoclavagem, 78,17 U/g de amiloglicosidase (por FSJ), 74 °C e 40 min. Sob estas condições foi possível obter um meio hidrolisado (FSJh) contendo 1,55 mol/L de açúcares redutores (AR) que foi então empregado na composição do meio de cultivo de *Bacillus* sp. SM-02 nas condições de 35 °C por 96 h. A melhor produtividade de *β*-CD [0,896 *μ*mol/(L.h)] foi obtida no meio contendo 31,04 mmol/L de AR. Assim, é possível observar que o FSJh pode ser aplicado para a produção por fermentação submersa de *β*-CD.

PALAVRAS-CHAVE: Amiloglicosidase, *Bacillus*, ciclomaltodextrina glicanotransferase, planejamento experimental.

HYDROLYSIS OF JACKFRUIT SEED FOR PRODUCTION OF *β*-CYCLODEXTRINS BY *Bacillus* sp. SM-02

ABSTRACT: Jackfruit seeds are an agro-industrial residue rich in starch and β-cyclodextrins (β-CD) are encapsulating compounds that can be produced from starch. In this work, the best conditions for thermo-enzymatic hydrolysis of jackfruit seed bran (FSJ) were defined as: 56.5 g/L (FSJ by volume), 15 min autoclaving, 78.17 U/g of amyloglucosidase (per gram of FSJ), 74 °C and 40 min. Under these conditions it was possible to obtain a hydrolyzed medium (FSJh) containing 1.55 mol/L of reducing sugars (AR) that was then used in the composition of the culture medium of

Bacillus sp. SM-02 under the conditions of 35 °C for 96 h. The best productivity of *β*-CD [0.896 *μ*mol/(L.h)] was obtained in the medium containing 31.04 mmol/L of AR. Thus, it is possible to observe that FSJh can be applied for production by submerged fermentation of *β*-CD.
KEYWORDS: Amyloglucosidase, *Bacillus*, cyclomaltodextrin glucanotransferase, experimental design.

1 I INTRODUÇÃO

A jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) é uma planta originária da Ásia cujo fruto, a jaca, é muito apreciado e difundido no Norte e Nordeste do Brasil (Falcão et al., 2001; Sousa et al., 2020). A polpa que recobre suas sementes é muito consumida devido ao seu sabor peculiar, no entanto, as sementes também podem ser consumidas (assadas ou cozidas) em algumas localidades, mas geralmente, elas são descartadas como resíduos. Por serem ricas em amido, proteína e fibras, as sementes de jaca têm sido cada vez mais investigadas e propostas para alimentação humana (Feitosa et al., 2017; Leite et al., 2019; Santos et al., 2012; Waghmare et al., 2019). A composição de amido nas sementes foi relatada, por exemplo, por Santos et al. (2013) para duas variedades de jaca obtidas na região sudoeste da Bahia como em torno de 30 % (p/p), sendo que as sementes corresponderam a 12-13 % dos frutos. Devido às propriedades diferenciais do amido das sementes de jaca (Madruga et al, 2014; Santos et al., 2009; Rodrigues et al., 2020; Zhang et al., 2021) em relação aos amidos mais tradicionais, ele também tem sido proposto para diferentes aplicações tecnológicas como: alimentos, embalagens e recobrimentos, fermentação, etc. (Zhang et al., 2021).

Uma destas aplicações é a obtenção de ciclodextrinas (CD) por ação da enzima ciclomaltodextrina glicanotransferase (CGTase) sobre o amido e compostos amiláceos. As CDs naturais são moléculas orgânicas formadas por seis (*α*-CD), sete (*β*-CD) e oito (*γ*-CD) unidades glicopiranosídicas ligadas na posição α-1,4, sendo que as *β*-CD são as mais aplicadas na indústria (Kurkov & Loftsson, 2013; Saokham & Loftsson, 2017). Devido à sua versatilidade, características químicas e sua estrutura cônica, as CDs podem armazenar outras substâncias em seu interior e assim são excelentes encapsulantes para as áreas de alimentos e/ou farmacêuticos (Astray et al., 2009; Hu et al., 2021; Tiwari, Tiwari & Rai, 2010). As CGTases podem ser produzidas por diferentes microrganismos, especialmente bacilos cultivados em meios contendo amido solúvel e outros tipos de amido como o de mandioca (Coelho et al., 2016; Ibrahim et al., 2011; Moriwaki et al., 2009).

A proposta de se empregar as sementes de jaca como fonte de amido para obtenção de *β*-CD já vem sendo investigada. Em estudo prévio em nosso grupo de pesquisa, foi possível obter *β*-CD a partir do farelo de semente de jaca (sem pré-tratamento) por ação direta de uma CGTase comercial (Silva Jr. et al., 2019). Adicionalmente, outro estudo do grupo de pesquisa (dados ainda não publicados) empregou o amido extraído das sementes de jaca na composição de meio de cultivo para obtenção de *β*-CD e CGTase. Assim, de forma

a se investigar mais possibilidades de aplicação das sementes de jaca para a produção de *β*-CD este presente trabalho se propôs a investigar o pré-tratamento por hidrólise térmica e enzimática do farelo da semente de jaca para ser empregado na composição do meio de cultivo de *Bacillus* sp. SM-02, uma cepa produtora de CGTase, previamente isolada por Coelho et al. (2016).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo do farelo de semente de jaca (FSJ)

Conforme realizado por Silva Jr. et al. (2019), frutos da jaqueira (*Artocarpus intergrifólia* L.) em bom estado de maturação foram obtidos na região de Ilhéus (Bahia); os frutos foram abertos e as sementes separadas manualmente. Estas sementes foram trituradas em um moinho de faca (Macro/Willye - NL - 226 - 03) e peneiradas (70 Mesh) sendo em seguida secas em estufa (Tholh – 501) a 105 °C até peso constante. O farelo assim obtido foi denominado FSJ.

2.2 Hidrólise térmica e enzimática do FSJ

A hidrólise de 5 g do FSJ em Erlenmeyer de 250 mL foi realizada de acordo com as etapas descritas de forma geral a seguir – sendo que as condições específicas para V_1, t_1, *AMG*, *T* e t_2 são apresentadas no tópico 2.3:

a) a etapa térmica foi conduzida com diferentes volumes de tampão acetato (50 mM / pH 5,0) (V_1, mL) e com autoclavagem (121 °C) por diferentes tempos (t_1, min), os frascos foram resfriados à temperatura condizente com a etapa enzimática seguinte;

b) a etapa enzimática foi realizada com a adição de diferentes cargas da enzima amiloglicosidase (*AMG*, U) a partir da solução comercial AMG® 300L doada pela empresa Novozymes (Araucária, Paraná), a reação ocorreu em diferentes temperaturas (*T*, °C) e tempos (t_2, min);

c) por fim, o meio foi submetido a choque térmico com ebulição por 5 min e banho de gelo por mais 5 min para inativação da AMG. O conteúdo foi então centrifugado (5.000 *g*/ 10 min) e filtrado a vácuo em papel de filtro comum; o sobrenadante clarificado coletado foi identificado como farelo de semente de jaca hidrolisado (FSJh) e foi utilizado para determinar o conteúdo de açúcares redutores (*AR*, *μ*mol/mL).

2.3 Estudo das condições de hidrólise do FSJ

As condições de hidrólise foram analisadas por meio da metodologia de planejamento experimental (Rodrigues & Iemma, 2014) com o auxílio do software estatístico Protimiza Experimental Design[1]. Inicialmente, foram investigadas as variáveis independentes (fatores) com níveis variando – com base em Cuccolo et al. (2009) e Moriwaki et al. (2009)

1. Protimiza Experimental Desgin – disponível em: https://experimental-design.protimiza.com.br/ último acesso em 08 de fevereiro de 2021.

– entre: V_1 = 95 – 135 mL, t_1 = 15 – 25 min, *AMG* = 390,85 – 781,70 U, *T* = 40 – 60 ºC e t_2 = 40 – 240 min. Para tanto, foi aplicada uma matriz do tipo fatorial fracionado (FF) 2^{5-1} com 16 ensaios em diferentes combinações entre si e 3 repetições do ponto central, totalizando 19 ensaios. A resposta analisada foi *AR* e, com os valores obtidos, foi realizada a Análise de Efeitos com 95 % de confiabilidade. Em seguida, sendo possível fixar os valores de t_1 = 15 min, *AMG* = 390,85 U (correspondente a 1 mL de solução enzimática) e t_2 = 40 min, foram selecionados novos níveis para os fatores: V_1 = 82 – 93 mL e *T* = 50 – 70 ºC e foi realizada uma matriz do tipo Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2^2, com 4 ensaios em diferentes combinações, 4 pontos axiais e triplicatas dos pontos centrais, totalizando 11 ensaios. A resposta *AR* foi utilizada para a Análise dos Coeficientes (com 80 % de confiabilidade) e a Análise de Variância - ANOVA (com 95 % de confiabilidade) para obtenção do modelo matemático que permitisse a obtenção da Superfície de Resposta e Curva de Contorno.

2.4 Determinação dos açúcares redutores *(AR)* e atividade de AMG

A concentração de açúcares redutores expressos em glicose (AR) liberados no meio em função da hidrólise do FSJ foi realizada por meio da metodologia do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) conforme descrito em Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013). A reação ocorreu com a adição de 0,5 mL da amostra e 0,5 mL do reagente de DNS e incubação a 100 °C por 15 min seguido de 5 min em banho de gelo; adicionou-se 4 mL de água destilada e foi feita a leitura da absorbância a 540 nm. A condição branco foi realizada substituindo a amostra por água destilada e a curva padrão foi obtida com glicose variando de 0,56 a 5,56 *μ*mol/mL. O cálculo de *AR* (*μ*mol/mL ou mmol/L) foi feito de acordo com a Equação 1 empregando o valor da leitura de absorbância da amostra (*A*, abs), a inclinação da curva padrão [*k* = 9,54 *μ*mol/(mL.abs)], o fator de diluição da reação (f_{dns} = 10) e o fator de diluição da amostra (f_a) quando necessário.

$$AR\left(\frac{mmol}{L}\right) = (abs)\cdot(k)\cdot(f_{dns})\cdot(f_a) \quad (01)$$

A atividade de amiloglicosidase (AMG) foi determinada com base em Warren et al. (2015) com adaptações, sendo empregados 0,5 mL da solução comercial e 1,5 mL de uma solução de amido solúvel (10 g/L) em tampão acetato de sódio (50 Mm / pH 5,0) com incubação a 40 °C / 10 min; em seguida, procedeu-se a determinação de *AR* como descrito acima. Uma unidade de atividade (U) foi determinada como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 *μ*mol/mL de açúcar redutor por minuto; para o cálculo, multiplicou-se o valor de *AR* obtido (Eq. 01) pelo fator de diluição da reação enzimática (f_{enz} = 4) e, quando necessário, pelo fator de diluição da amostra. A condição branco equivaleu a substituição da amostra por água destilada. A solução comercial utilizada apresentou atividade de 390,85 U/mL e este valor foi empregado para o cálculo da carga enzimática a ser empregada na hidrólise (*AMG*, U).

2.5 *Bacillus* sp. SM-02: manutenção e inóculo

A cepa *Bacillus* sp. SM-02 foi proveniente do Laboratório de Bioquímica do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB, Cruz das Almas, BA); a conservação foi feita a -80 °C em glicerol a 20 % (p/v), sua ativação e manutenção (meio sólido) e cultivo (meio líquido) foram realizados conforme descrito por Nakamura e Horikoshi (1989). A composição do meio base foi de: 10 g/L de amido solúvel, 10 g/L de Na_2CO_3, 5 g/L de peptona, 5 g/L de extrato de levedura, 1,0 g/L de K_2HPO_4, 0,2 g/L de $MgSO_4.7H_2O$ e pH 10 (sendo: esterilização separada do Na_2CO_3 e adição de 15 g/L de ágar para obtenção do meio sólido); as condições de incubação foram de: 35 °C / 72 h (TECNAL TE-391). Para obtenção do inóculo, o microrganismo foi cultivado em meio sólido e as células foram raspadas da superfície com 5 mL de solução salina (NaCl, 0,85 % p/v) estéril. O volume coletado de solução concentrada de células foi diluído com solução salina estéril até se obter a leitura de absorbância (600 nm) de 0,100 (BEL SPECTROPHOTOMETRER 2000Uv), o que equivale a aproximadamente $3 \cdot 10^7$ células totais por mL de solução concentrada (determinado em câmara de Newbauer). Após a diluição apropriada, este inóculo foi empregado nas fermentações numa proporção de 0,10 mL para cada 100 mL de meio (Coelho et al., 2016).

2.6 Produção de *β*-CD por *Bacillus* sp. SM-02

As fermentações foram realizadas em frascos Erlenmeyers de 500 mL com um volume total de 100 mL de meio inoculado; a partir da composição do meio base de cultivo a composição do amido solúvel foi substituída por FSJh nas composições de: 1,5, 2,0 e 2,5 % (v/v). O FSJh empregado apresentou um valor de *AR* de 1.551,95 mmol/L e foi obtido de acordo com as melhores condições definidas para a hidrólise (para 5 g de FSJ: V_1 = 87,5 mL, t_1 = 15 min, *AMG* = 390,85 U, *T* = 74 °C e t_2 = 40 min). A incubação ocorreu por 96 h a 35 °C e 150 rpm (SP-222, SP LABOR); amostras foram coletadas a cada 24 h sendo determinados: β-CD e CGTase.

2.7 Determinação da *β*-CD e atividade de CGTase

A concentração de *β*-CD (*μ*mol/L) e a atividade da ciclomaltodextrina glicanotransferase (CGTase, U/mL) foram determinadas por espectrofotometria, com base na reação de complexação entre *β*-CD e fenolftaleína (PHE) conforme aplicado por Silva Jr. et al. (2019) e baseado em Tardioli et al. (2006) e Moriwaki et al. (2009); amido e fenolftaleína foram doados pela empresa Cristália (São Paulo, SP). Para determinação da *β*-CD, a reação foi realizada com 0,5 mL de amostra e 2,5 mL de solução PHE que foi preparada a 60 *μ*mol/L em volumes iguais de etanol a 95 % (v/v) e solução tampão carbonato-bicarbonato de sódio (0,12 mol/L / pH 10,5); a absorbância da reação (A_r) foi lida a 550 nm e uma condição branco foi feita com água ao invés da amostra e sua absorbância também foi determinada (A_o). O valor da concentração de β-CD (βCD, *μ*mol/L) foi determinado de

acordo com a Equação 2, sendo necessários ainda os valores da concentração de PHE dentro da cubeta (*c* = 50 *μ*mol/L) e o fator de diluição da reação (f_r = 6); o fator de diluição da amostra (f_a) foi usado apenas quando necessário. A curva padrão foi preparada com concentrações de *β*-CD de 0 a 100 *μ*mol/L e foi analisada com o software Calc, pertencente a suíte de escritório LibreOffice, para determinação do valor da constante de equilíbrio termodinâmico ($K_{\beta CD}$ = 16.878,68 L/*μ*mol).

$$\beta CD\ \left(\frac{\mu mol}{L}\right) = (f_r)\cdot(c)\cdot\left[1-\left(\frac{A_r}{A_o}\right)\right]\cdot\left\{1+\left[\frac{(A_o)}{(K_{\beta CD})\cdot(c)\cdot(A_r)}\right]\right\}\cdot(f_a) \quad (02)$$

Para a reação enzimática e determinação da CGTase definiu-se que uma unidade de atividade enzimática (U) corresponde à quantidade de enzima necessária para liberar 1 *μ*mol de *β*-CD por minuto de reação. A reação consistiu da adição de 0,50 mL da amostra em 0,50 mL de solução 0,1 g/mL de amido solúvel em tampão Tris-HCl (pH 8 / 10 mmol/L e $CaCl_2$ 5 mmol/L) com incubação ocorreu em banho termostatizado (TECNAL, TE-0541) a 50 ºC e a cada 5 min foram coletadas amostras até completar 30 min; a reação foi interrompida com 5 min em ebulição e 5 min em banho de gelo. Cada amostra coletada teve determinado seu valor de *βCD* e os valores obtidos foram plotados de forma a se obter a inclinação (*k*, *μ*mol/L.min) da linearização obtida. Este valor foi utilizado no cálculo do valor da atividade (*CGTase*, U/mL) conforme a Equação 3 que considera o fator de diluição da reação enzimática (f_r = 2) e, quando necessário, o fator de diluição (f_a) da amostra.

$$CGTase\left(\frac{U}{mL}\right) = (10^{-3})\cdot(k).(f_r).(f_a) \quad (03)$$

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação das melhores condições de hidrólise do FSJ

As concentrações de açúcares redutores (*AR*, mmol/L) obtidas na primeira etapa do estudo das condições de hidrólise do farelo de semente de jaca (FSJ) revelaram que os ensaios 9, 11 e 13 (Tab. 1) resultaram em valores de *AR* acima de 500 mmol/L e os pontos centrais apresentaram um valor médio de 436,54 ± 8,97 mmol/L. A análise da curvatura não indicou os pontos centrais como estatisticamente significativos em relação ao valor médio de todos os experimentos (Tab. 2). Só se mostraram estatisticamente significativos os fatores: volume de tampão (V_1) e temperatura de reação enzimática (*T*), sendo que o aumento de V_1 apresentou efeito negativo sobre *AR* e o efeito inverso foi observado para *T* (Tab. 2).

Ensaio	Fatores					Resposta
	V_1 (mL)	t_1 (min)	*AMG* (U)	*T* (ºC)	t_2 (min)	*AR* (mmol/L)
1	-1 (95)	-1 (15)	-1 (390,85)	-1 (40)	+1 (240)	431,12
2	+1 (135)	-1 (15)	-1 (390,85)	-1 (40)	-1 (40)	257,07
3	-1 (95)	+1 (25)	-1 (390,85)	-1 (40)	-1 (40)	433,76
4	+1 (135)	+1 (25)	-1 (390,85)	-1 (40)	+1 (240)	196,94
5	-1 (90)	-1 (15)	+1 (781,70)	-1 (40)	-1 (40)	410,15
6	+1 (135)	-1 (15)	+1 (781,70)	-1 (40)	+1 (240)	393,14
7	-1 (90)	+1 (25)	+1 (781,70)	-1 (40)	+1 (240)	257,59
8	+1 (135)	+1 (25)	+1 (781,70)	-1 (40)	-1 (40)	291,35
9	-1 (90)	-1 (15)	-1 (390,85)	+1 (60)	-1 (240)	639,19
10	+1 (135)	-1 (15)	-1 (390,85)	+1 (60)	+1 (240)	296,10
11	-1 (90)	+1 (25)	-1 (390,85)	+1 (60)	+1 (240)	518,01
12	+1 (135)	+1 (25)	-1 (390,85)	+1 (60)	-1 (40)	283,92
13	-1 (90)	-1 (15)	+1 (781,70)	+1 (60)	+1 (240)	507,02
14	+1 (135)	-1 (15)	+1 (781,70)	+1 (60)	-1 (40)	296,58
15	-1 (90)	+1 (25)	+1 (781,70)	+1 (60)	-1 (40)	527,33
16	+1 (135)	+1 (25)	+1 (781,70)	+1 (60)	+1 (240)	408,92
17	0 (115)	0 (20)	0 (586,27)	0 (50)	0 (140)	446,89
18	0 (115)	0 (20)	0 (586,27)	0 (50)	0 (140)	431,60
19	0 (115)	0 (20)	0 (586,27)	0 (50)	0 (140)	431,12

Tabela 1. Matriz codificada FF 2^{5-1} para a hidrólise termo-enzimática de 5 g de farelo de semente de jaca com os fatores: volume de tampão (V_1, mL), tempo de autoclavagem (t_1, min), carga de amiloglicosidase (*AMG*, U), temperatura (*T*, °C) e tempo (t_2, min) de reação enzimática. Os valores reais de cada fator são representados em parênteses. A resposta analisada foi a concentração de açúcares redutores expressos em glicose (*AR*, mmol/L).

Fator	Efeito	Erro Padrão	*t*	*p*
Média	384,26	19,44	19,77	< 0,001 *
Curvatura	104,55	97,84	1,07	0,3063
V_1 **(mL)**	-162,52	38,88	-4,18	0,0013 *
t_1 **(min)**	-39,07	38,88	-1,00	0,3348
AMG **(U)**	4,50	38,88	0,12	0,9098
T **(ºC)**	100,74	38,88	2,59	0,0236 *
t_2 **(min)**	-16,31	38,88	-0,42	0,6822

* fator estatisticamente significativos com 95 % de confiabilidade (*p*-valor < 0.05)

Tabela 2. Análise de Efeitos dos fatores: volume de tampão (V_1, mL), tempo de autoclavagem (t_1, min), carga de amiloglicosidase (*AMG*, U), temperatura (*T*, °C) e tempo (t_2, min) de reação enzimática sobre a resposta concentração de açúcares redutores expressos em glicose (*AR*, mmol/L) provenientes da matriz FF 2^{5-1}.

Com base nos resultados obtidos, foi possível definir valores fixos para alguns dos fatores visto que estes não foram estatisticamente significativos. Para t_1, *AMG* e t_2 foram selecionados seus menores níveis de forma a se tornar o processo mais rápido e com menor custo. Já os fatores V_1 e *T* foram selecionados para a nova etapa do estudo com novos níveis; para V_1 os valores foram reduzidos para abaixo do mínimo investigado na matriz FF 2^{5-1} devido ao seu efeito negativo e em relação a *T* o novo maior nível foi definido 10 °C acima do aplicado nesta etapa.

Em seguida, os valores de *AR* obtidos na segunda etapa de estudo das condições de hidrólise (Tab. 3) e os valores de *AR* obtidos (Tab. 3) foram maiores que os valores máximos obtidos na primeira etapa (Tab. 1); os ensaios 20, 22, 27 e os pontos centrais (28, 29 e 30), por exemplo, apresentaram *AR* > 1.200 mmol/L (Tab. 3) sendo a média dos pontos centrais de 1.369,33 ± 138,24 mmol/L.

Ensaio	**Fatores**		**Resposta**
	V_1 **(mL)**	***T*** **(ºC)**	***AR*** **(mmol/L)**
20	-1 (82,00)	-1 (50,0)	1.252,25
21	+1 (93,00)	-1 (50,0)	580,31
22	-1 (82,00)	+1 (70,0)	1.319,42
23	+1 (93,00)	+1 (70,0)	950,64
24	-1,41 (79,76)	0 (60,0)	649,03
25	+1,41 (95,26)	0 (60,0)	666,21
26	0 (87,50)	-1,41 (45,9)	788,00
27	0 (87,50)	+1,41 (74,1)	1.551,95
28	0 (87,50)	0 (60,0)	1.210,25
29	0 (87,50)	0 (60,0)	1.460,32
30	0 (87,50)	0 (60,0)	1.437,41

Tabela 3. Matriz codificada DCCR 2^2 para a hidrólise de 5 g de farelo de semente de jaca, com os fatores: volume de tampão (V_1, mL) e temperatura da hidrólise enzimática (*T*, °C) e a resposta açúcares redutores (*AR*, mmol/L). Os valores reais de cada fator são representados entre parênteses.

Alguns termos puderam ser removidos do modelo quadrático (Tab. 4) e optou-se por manter o termo linear V_1 considerando um intervalo de confiabilidade menor (80 % de confiabilidade) pois isso resultou num aumento no valor de R^2 de 0,6652 para 0,7639. Após a remoção dos termos não significativos, o modelo codificado reduzido (Eq. 4) foi considerado estatisticamente significativo (p < 0,05) sendo que a Falta de Ajuste não foi estatisticamente significativa porém os valores de R^2 e R^2_{adj} se apresentaram abaixo do ideal (> 90%) (Tab. 5).

$$AR\left(\frac{mmol}{L}\right) = 1.301{,}83 - 127{,}05 \cdot (V_1) - 306{,}80 \cdot (V_1)^2 + 189{,}74 \cdot (T) \qquad (04)$$

O modelo (Eq. 04) foi então empregado na obtenção da curva de contorno (Fig. 1.a) cuja análise revelou uma região de respostas máximas (porém não otimizada dentro da faixa experimental investigada); o ponto de máximo fornecido pelo modelo (primeira derivada igual a zero) indicou a condição codificada de V_1 = + 0,207 e valores codificados crescentes de *T*. Considerando o ensaio 27 (Tab. 3) realizado com os valores codificados semelhantes (V_1 = 0 e *T* = +1,41) ao indicado pelo modelo e que se encontra dentro da região de respostas máximas (Fig. 1.a), escolheu-se esse ensaio como melhor condição para a hidrólise. Infelizmente, devido a limitações na disponibilidade da solução de amiloglicosidase no momento da análise, não foi possível repetir o ensaio 27 em triplicata, mesmo assim, ao compararmos o valor de *AR* deste ensaio (1.551,95 mmol/L) com o valor teórico fornecido pelo modelo (1.491,57 mmol/L), observa-se um desvio positivo de 4,05 %. Esta concentração de AR obtida com o ensaio 27 pode ainda ser expressa em função dos sólidos empregados (FSJ = 5 g) como: 27,47 mmol/g. Se considerarmos ainda o valor médio dos pontos centrais – que foram realizados em triplicata (Tab. 3) – e o compararmos com o valor predito pelo modelo para esta condição (*AR* = 1.301,93 mmol/L) observamos um desvio positivo de 5,19 %. Estes desvios podem ser explicados, em parte, pelos valores baixos de R^2 e R^2_{adj} (Tab. 5) e portanto, indicam que o modelo ajustado (Eq. 04) deve ser analisado com cautela, como pode ser observado na relação entre valores teóricos e experimentais (Fig. 1.b).

Fator	**Coef.**	**Erro Padrão**	***t***	***p***
Média	1369,33	130,82	10,47	0,0001 *
(V_1)	-127,05	80,11	-1,59	0,1736 *
(V_1)²	-327,89	95,35	-3,44	0,0185 *
(T)	189,74	80,11	2,37	0,0641 *
(T)²	-71,71	95,35	-0,75	0,4859
(V_1)·(*T*)	75,79	113,29	0,67	0,5331

* coeficientes estatisticamente significativos com 80 % de confiabilidade (*p*-valor < 0.20)

Tabela 4. Análise dos Coeficientes do modelo codificado reduzido para os fatores: volume de tampão (V_1, mL) e temperatura da hidrólise enzimática (*T*, °C) e a resposta açúcares redutores (*AR*, mmol/L) provenientes da matriz DCCR 2^2.

Fonte	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	*F*	*p*
Regressão	998999,1	3	332999,7	7,55	0,0134 *
Resíduos	308707	7	44101		
Falta de Ajuste	270486,5	5	54097,3	2,83	0,2814
Erro Puro	38220,51	2	19110,26		
Total	1307706	10			
R^2	0,7639				
R^2_{adj}	0,5667				

* termo estatisticamente significativos com 95 % de confiabilidade (*p*-valor < 0.05)

Tabela 5. Análise da Variância os Coeficientes do modelo reduzido codificado com os fatores: volume de tampão (V_1, mL) e temperatura da hidrólise enzimática (*T*, °C) e a resposta açúcares redutores (*AR*, mmol/L).

Dessa forma, as melhores condições sugeridas para a hidrólise do farelo de semente de jaca (FSJ) foram definidas, para 5 g de FSJ, com a etapa térmica realizada com 87,50 mL de tampão acetato de sódio (50 mM / pH 5) e 15 min de autoclavagem; após o resfriamento a etapa enzimática deve ser realizada com 390,85 U de amiloglicosidase e reação a 74 °C por 30 min. Considerando que, nas condições dos experimentos, foi adicionado um volume de solução de AMG de 1 mL, a proporção de sólidos (FSJ) por volume total de hidrólise empregada equivale a 56,50 g/L e a carga de AMG por sólidos (FSJ) foi de 78,17 U/g.

A hidrólise de diferentes resíduos tem sido relatada na literatura e muitas tecnologias com diferentes graus de complexidade tem sido investigadas. Por comparação, pode-se citar a hidrólise enzimática da semente de jaca com um extrato bruto multienzimático (produzido por *Penicillium roqueforti* ATCC 101110 cultivado em resíduo de cajá) que resultou numa produtividade de AR de 6,26 mg/(g.h) empregando uma proporção de sólidos e volume de hidrólise menor (40,7 g/L) (Marques & Aguiar-Oliveira, 2020). As sementes de jaca também já foram investigadas por Nair et al. (2016) para sacarificação (hidrólise) e fermentação simultâneas por *Streptococcus equinus* para produção de ácido lático mas não foram relatados os teores de AR obtidos.

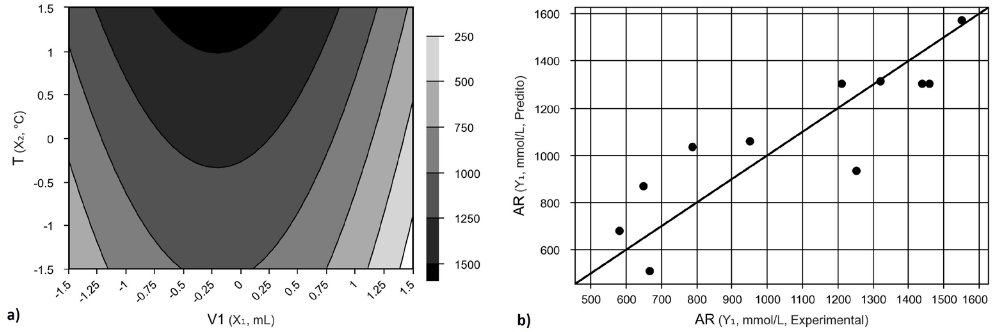


Figura 1. **a)** Curva de Contorno obtida para a interação dos fatores codificados de volume de tampão (V_1, mL) e temperatura para hidrólise enzimática (*T*, ºC) sobre a resposta açúcares redutores (*AR*, *μ*mol/mL) e a **b)** relação entre valores experimentais e preditos pelo modelo.

3.2 Produção de *β*-CD e CGTase a partir do FSJh

O farelo de semente de jaca hidrolisado (FSJh) foi então aplicado na composição do meio de cultivo de *Bacillus* sp. SM-02 de forma a se obter β-CD e, consequentemente, CGTases; a Tabela 6 apresenta os valores obtidos. De acordo com os resultados, é possível identificar o bom potencial do FSJh para a obtenção de β-CD, especialmente ao empregar 2 % (v/v) de FSJh e um tempo de fermentação de com 96 h que resultou em 86,0 *μ*mol/L de β-CD [produtividade equivalente de 0,896 *μ*mol/(L.h)]. Considerando a concentração AR presente no FSJh empregado, esta condição a 2 % (v/v) representa uma concentração de AR por volume de meio de cultivo de 31,04 mmol/L. Como consequência da maior concentração de β-CD, nestas mesmas condições foi determinada a maior atividade de CGTase (8,1 U/mL).

FSJh (%, v/v)	***β*-CDs (μmol/L)**			
	24 h	**48 h**	**72 h**	**96 h**
1,5	19,00	38,30	45,20	67,11
2,0	18,40	38,15	43,75	86,00
2,5	11,84	38,44	43,61	78,30
FSJh (%, v/v)	**CGTase (U/mL)**			
	24 h	**48 h**	**72 h**	**96 h**
1,5	0,48	4,07	5,57	6,72
2,0	0,58	3,46	5,05	8,10
2,5	1,04	4,84	5,15	7,70

Tabela 6. Concentração de *β*-CD (*μ*mol/L) e atividade de CGTase (U/mL) obtidos durante o cultivo de *Bacillus* sp. SM-02 em meio contendo diferentes composições (%, v/v) de farelo de semente de jaca hidrolisado (FSJ-h).

A produção de β-CD por ação direta de uma CGTase comercial (13,4 U) sobre 10 g de FSJ (sem pré-tratamento) realizada por Silva Jr. et al. (2019) apresentou uma produtividade maior de *β*-CD [52,10 μmol/(L.h.g)] porém há que se considerar que se tratava de um processo enzimático e não de uma fermentação submersa como a realizada neste trabalho. De acordo com Szerman et al. (2007), a CGTase de *B. circulans* DF 9R não foi capaz de atuar sobre amido cru e assim eles propuseram uma etapa prévia de liquefação do amido (70 °C por 15 min) e observaram um aumento na produção de *β*-CD, chegando a cerca de 9 g/L; de acordo com estes pesquisadores, os pré-tratamentos podem auxiliar a melhorar o desempenho da CGTase e obtenção de *β*-CD. No trabalho de Moriwaki et al. (2009) a maior atividade obtida de CGTase foi de 0,114 U/mL ao cultivar *B. firmus* cepa 7B por 5 dias em meio contendo amido solúvel e peptona de pulmão. Já o cultivo de *B. clausii* E16 em meio contendo polvilho doce por Cucoclo et al. (2006) resultou na produção de 1,8 U/mL após 48 h de cultivo

4 I CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi possível investigar as melhores condições para hidrólise termo-enzimática do FSJ de forma a se obter boas composições de açúcares redutores (ARs) e assim, pode-se contribuir para a proposta de uso das sementes de jaca, que são resíduos agroindustriais ainda subutilizados, mesmo sendo ricos em amido. Esta proposta de pré-tratamento do farelo de semente de jaca (FSJ) mostrou-se vantajosa não apenas pelos ARs obtidos mas também pela possibilidade de empregá-los na composição do meio de cultivo de *Bacillus* sp. SM-02 (e também de outras cepas) visando a produção de *β*-CD e CGTase que também são dois bioprodutos com relevante importância industrial.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos pelo apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo apoio experimental dos Laboratórios de Biotransformação e Biocatálise Orgânica (LABIOCAT) e de Microbiologia Aplicada (LABMA), ambos localizados na Universidade Estadual de Santa Cruz.

REFERÊNCIAS

Astray, G.; Gonzalez-Barreiro, C.; Mejuto, J.C.; Rial-Otero, R.; Simal-Gándara, J. A review on the use of cyclodextrins in foods. **Food Hydrocolloids**, v. 23, I. 7, p. 1631-1640, 2009. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.01.001.

Coelho, S. L. A.; Magalhães, V. C.; Marbach, P. A. S.; Cazetta, M. L. A new alkalophilic isolate of Bacillus as a producer of cyclodextrin glycosyltransferase using cassava flour. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 120-128, 2009. doi:10.1016/j.bjm.2015.11.018.

Cuccolo, G. R.; Alves-Prado, H. F.; Gomes, E.; Silva, R. Otimização da Produção de CGTase de *Bacillus* sp Subgrupo *alcalophilus* E16 em Polvilho Doce em Fermentação Submersa. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 3, p. 201-208, 2006.

Falcão, M. A.; Clement, C. R.; Gomes, J. B. M.; Chávez Flores, W. B.; Santiago, F. F.; Freitas, V. P. Fenologia e produtividade da fruta-pão (*Artocarpus altilis*) e da Jaca (*A. heterophyllus*) na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v. 31, n. 2, p. 179-191, 2001. doi:10.1590/1809-43922001312191.

Feitosa, R. M.; Queiroz, A. J. M.; Figueirêdo, R. M. F.; Melo, J. C. S. Avaliação físico-química e sensorial de amêndoas de jaca cozida. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 15, n. 1, p. 83-89, 2017. doi:10.5327/rcaa.v15i1.2200.

Hu, Y.; Qiu, C.; Qin, Y.; Xu, X.; Fan, L.; Wang, J.; Jin, Z. Cyclodextrin–phytochemical inclusion complexes: Promising food materials with targeted nutrition and functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 109, p. 398-412, 2021. doi:10.1016/j.tifs.2020.12.023.

Ibrahim, A. S. S.; El-Tayeb, M. A.; Elbadawi, Y. B.; Al-Salamah, A. A. Effects of substrates and reaction conditions on production of cyclodextrins using cyclodextrin glucanotransferase from newly isolated *Bacillus agaradhaerens* KSU-A11. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 5, p. 4, 2011. doi:10.2225/vol14-issue5-fulltext-4.

Kurkov, S.; Loftsson, T. Cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, I. 1, p. 167-180, 2013. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.06.055.

Leite, D. D. F.; Queiroz, A. J. M.; Figueirêdo, R. M. F.; Lima, L. S. L. Mathematical drying kinetics modeling of jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 3, p. 361-369, 2019. doi:10.5935/1806-6690.20190043.

Madruga, M. S.; Albuquerque, F. S. M.; Silva, I. R. A.; Amaral, D. S.; Magnani, M.; Queiroga Neto, V. Chemical, morphological and functional properties of Brazilian jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) seeds starch. **Food Chemistry**, v. 143, p. 440-445, 2014. doi:10.1016/j.foodchem.2013.08.003.

Marques, G. L.; Aguiar-Oliveira, E. Yellow mombin and jackfruit seeds residues applied in the production of reducing sugars by a crude multi-enzymatic extract produced by *Penicillium roqueforti* ATCC 101110. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, I. 8, p. 3428–3434, 2020. doi:10.1002/jsfa.10377.

Moriwaki, C.; Mazzer, C.; Pazzetto, R.; Matioli, G. Produção, purificação e aumento da performance de ciclodextrina glicosiltransferases para produção de ciclodextrinas. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2360-2366; 2009. doi:10.1590/S0100-40422009000900024.

Nair, N. R.; Nampoothiri, K. M.; Banarjee, R.; Reddy, G. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of jackfruit seed powder (JFSP) to l-lactic acid and to polylactide polymer. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 283-288, 2016. doi:10.1016/j.biortech.2016.03.020.

Nakamura, N.; Horikoshi, K. Purification and properties of neutral-cyclodextrin glycosyl-transferase of an alkalophilic *Bacillus* sp. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 40, I. 9, p. 1785-1791, 1976. doi:10.1080/00021369.1976.10862309.

Rodrigues, A. A. M.; Santos, L. F.; Costa, R. R.; Félix, D. T.; Nascimento, J. H. B.; Lima, M. A. C. Characterization of starch from different non-traditional sources and its application as coating in ‘Palmer’ mango fruit. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, e011220, 2020. doi:10.1590/1413-7054202044011220.

Rodrigues, M. I.; Iemma, F. A. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. 3ª ed. Campinas: Caritá, 2014.

Santos, L. S.; Bonomo, R. C. F.; Fontan, R. C. I.; Santos, W. O.; Silva, A. A. L. Gelatinization temperature and acid resistance of jackfruit seed starch. **CyTA – Journal of Food**, v. 7, I. 1, p. 1-5, 2013. doi:10.1080/11358120902850461.

Santos, D. B.; Machado, M. S.; Aráujo, A. F.; Cardoso, R. L.; Tavares, J. T. Q. Desenvolvimento e pão francês com a adição de farinha de caroço de jaca (*Artocarpos intergrifólia* L.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 598, 2012.

Santos, L. S.; Bonomo, R. C. F.; Fontan, R. C. I.; Santos, W. O.; Silva, A. A. L. Gelatinization temperature and acid resistance of jackfruit seed starch. **CyTA - Journal of Food**, v. 7, I. 1, p. 1-5, 2009. doi:10.1080/11358120902850461.

Saokham, P.; Loftsson, T. γ-Cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 516, I. 1–2, p. 278-292, 2017. doi:10.1016/j.ijpharm.2016.10.062.

Szerman, N.; Schroh, I.; Rossi, A. L.; Rosso, A. M.; Krymkiewicz, N.; Ferrarotti, S. A. Cyclodextrin production by cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* DF 9R. **Bioresource Technology**, v. 98, I. 15, p. 2886-2891, 2007. doi: 10.1016/j.biortech.2006.09.056.

Silva Jr., B. L.; Marques, G. J.; Reis, N. S.; Maldonado, R. R.; Santos, R. L. S. R.; Aguiar-Oliveira, E. Enzymatic production of β-cyclodextrin from jackfruit seeds (*Artocarpus intergrifolia* L.). **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 4, p. 1393-1402, 2019. doi:10.1590/0104-6632.20190364s20180343.

Sousa, A. P. M.; Macedo, A. D. B.; Silva, A. P. F.; Costa, J. D.; Dantas, D. L.; Apolinário, M. O.; Santana, R. A. C.; Campos, A. R. N. Enriquecimento proteico dos resíduos da jaca por fermentação semissólida. **Brazilian Applied Science Review**, v. 4, n. 3, p. 987-997, 2020. doi:10.34115/basrv4n3-019.

Tardioli, P. W.; Zanin, G. M.; Moraes, F. F. Characterization of thermoanaerobacter cyclomaltodextrin glucanotransferase immobilized on glyoxyl-agarose. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, I. 6, p. 1270-1278, 2006. doi:10.1016/j.enzmictec.2006.03.011.

Tiwari, G.; Tiwari, R.; Rai, A. K. Cyclodextrins in delivery systems: Applications. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 2, I. 2, p. 72–79, 2010. doi:10.4103/0975-7406.67003.

Vasconcelos, N. M.; Pinto, G. A. S.; Aragão, F. A. S. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento n° 88: Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3,5-Dinitrosalicílico**. Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2013.

Zhang, Y.; Li, B.; Xu, F.; He, S.; Zhang, Y.; Sun, L.; Zhu, K.; Li, S.; Wu, G.; Tan, L. Jackfruit starch: Composition, structure, functional properties, modifications and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 107, p. 268-283, 2021. doi:10.1016/j.tifs.2020.10.041.

Waghmare, R.; Memon, N.; Gat, Y.; Gandhi, S.; Kumar, V.; Panghal, A. Jackfruit seed: an accompaniment to functional foods. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, e2018207, 2019. doi:10.1590/1981-6723.20718.

Warren, F. J.; Zhang, B.; Waltzer, G.; Gidley, M. J.; Dhital, S. The interplay of a-amylase and amyloglucosidase activities on thedigestion of starch in in vitro enzymic systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 192–200, 2015. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.09.043.

CAPÍTULO 15

IMOBILIZAÇÃO E CINÉTICA DA INVERTASE DE *Saccharomyces cerevisiae* EM AGAROSE

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 04/02/2021

Ricardo Peraça Toralles
Departamento de Engenharia Química – Instituto Federal Sul Rio-grandense – IFSUL, Laboratório de Bioquímica
Pelotas, RS, Brasil
https://orcid.org/0000-0003-0898-1803

Marcela Vega Ferreira
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Pelotas, RS, Brasil
https://orcid.org/0000-0002-5096-3142

Walter Augusto Ruiz
Departamento de Química – Universidade Federal do Rio Grande, Instituo de Química
Rio Grande, RS, Brasil
https://orcid.org/0000-0002-9836-1693

RESUMO: As experiências seguintes são oferecidas como hipótese que o método de imobilização não aumenta o valor de K_m como publicado por alguns autores. A invertase de levedura comercial (ILC) livre foi imobilizada covalentemente em glioxil-agarose usando três suportes ativados (2,5, 5 e 10 g) e dois pHs (7 e 10) como tratamentos para avaliar a eficiência da imobilização (EI) e atividade de recuperada (ARE). A atividade foi determinada por incremento na absorbância a 490 nm usando o método colorimétrico que resulta da reação da glicose-DNS. Os valores de K_m foram de 24 mM e 6,1 mM de sacarose para extrato cru e purificado, respectivamente. A imobilização ótima foi em pH 10 durante 24 h a 25ºC, 50 rpm; o suporte ativado de 5 g, ARE de 46,4%, RI de 37,5% e V_{max}/K_m de 65,2 de $U.mg^{-1}.mM^{-1}$. Finalmente, conclui-se que o método de imobilização não aumenta o valor do K_m, este é dependente da carga de suporte oferecida e do pH de imobilização.
PALAVRAS-CHAVE: Invertase, *Saccharomyces cerevisiae*, carga de suporte, pH de imobilização.

ABSTRACT: The following experiments are provided as a hypothesis that the method of immobilization does not raise K_m values as published by some authors. Free commercial yeast invertase (CYI) was covalently immobilized in glyoxyl agarose using three activated supports (2.5, 5, and 10 g) and two pH levels (7 and 10) as treatments to assess immobilization efficiency (IE) and recovered activity (RA). Activity was determined by an increase in absorbance at 490 nm using the colorimetric method resulting from the glucose-DNS reaction. K_m values were 24 mM and 6.1 mM saccharose for crude and purified extract, respectively. Optimal immobilization took place at pH 10 for 24 h at 25°C and 50 rpm with 5 g activated support, 46.4% RA, 37.5% IE, and V_{max}/K_m of 65.2 $U.mg^{-1}.mM^{-1}$. Finally, it is concluded the immobilization method does not increase K_m values, which depend on the support load provided and immobilization pH.
KEYWORDS: Invertase, *Saccharomyces cerevisiae*, load support, pH immobilization.

1 | INTRODUÇÃO

Uma alternativa para produção de açúcar invertido é a hidrólise enzimática usando invertase imobilizada. As invertases de origem microbiana têm sido bastante estudadas, especialmente de *Saccharomyces cerevisiae*. A imobilização consiste em reter ou ligar enzimas ou sistemas enzimáticos em uma região definida do espaço, normalmente um suporte. Nesse processo é importante preservar a atividade catalítica, de modo a permitir seu uso de maneira repetida e contínua. A imobilização da invertase ocorre principalmente por adsorção ou ligação covalente em um suporte ou aprisionamento em membranas (KOTWAL e SHANKAR, 2009). Neste trabalho fez-se imobilização por ligação covalente a um suporte, em duas etapas. A primeira etapa envolve a reação da agarose com o glicidol em presença de NaOH e $NaBH_4$ resultando agarose-gliceril (Eq. 1) e sua oxidação em presença de periodato de sódio para dar gel de agarose-glioxil (Eq. 2), que é o suporte pronto para imobilizar a invertase. Este tipo mecanismo confere uma maior estabilidade, dificultando a soltura da enzima do suporte e permitindo a utilização de substrato mais concentrado (CARAVANTE, 2013).

$$\text{Agarose-OH} + \overset{\;\;\;O}{\overbrace{CH_2\text{-}CH}}\text{-}CH_2OH \xrightarrow{NaOH+ \; NaBH_4} \underset{\text{Agarose-gliceril}}{\text{agarose-O-CHOH-}CH_2\text{-OH}} \qquad \text{Eq. 1}$$

$$\text{Agarose-gliceril} \longrightarrow \underset{\text{Agarose-glioxil}}{\text{agarose-O-}CH_2\text{-CHO}} \qquad \text{Eq. 2}$$

Comercialmente, a imobilização permite aproveitar a atividade enzimática por mais tempo, montar um biorreator com enzimas imobilizadas, melhorar a estabilidade de enzima, operar de forma continua, entre outras (GUISÁN, 2006). Nesse contexto, o estudou-se o processo de imobilização da invertase obtida de levedura comercial imobilizada em suporte de agarose-glioxil. As variáveis selecionadas foram: estabilidade da enzima livre, carga de proteína ofertada ao suporte e pH de imobilização, avaliando atividade recuperada (ARE) e eficiência da imobilização (EI). Também, se avaliou o efeito da concentração da sacarose na atividade da invertase livre e imobilizada.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O extrato enzimático foi obtido usando extração com $NaHCO_3$, conhecido como autólise. Para cada 100g de levedura comercial, são utilizados 300mL de solução de $NaHCO_3$ 0.1M a 40 °C e 200 rpm. O suporte agarose-glioxil foi preparado por esterificação da agarose com glicidol e posterior oxidação com periodato de sódio, Conforme equações 1

e 2 descritas anteriormente. As quantidades e a técnica estão descritas em Komesu (2009). A eficiência da formação do suporte de agarose-glioxil, foi determinado pelo periodato (IO_4^-) não consumido na reação de oxidação dos grupos gliceril. A evolução da oxidação foi acompanha pela medida da absorbância a 560 nm que foi definida por varredura, usando um sistema reacional contendo KI, $NaHCO_3$ saturado com adição de $NaIO_4$. A imobilização da invertase em agarose-glioxil foi realizada a 25ºC, 50 rpm durante 24h em tampão fosfato de sódio 100 mM pH 7,0 e tampão bicarbonato de sódio 100 mM pH 10. Uma alíquota de 1mL do meio reacional contendo tampão de imobilização e enzima foi retirada para medida de atividade inicial (branco de imobilização). Adicionou-se na suspensão de imobilização boroidreto de sódio (1 mg /mL suspensão), durante 30 minutos com agitação (100 rpm), 25ºC, com posterior centrifugação e reconstituição com tampão acetato de sódio 200mmol/L pH 5. A atividade da ILC livre e imobilizada foram acompanhadas por estimativa colorimétrica da glicose usando 3,5-dinitrosalicílico (DNS) e sacarose como substrato. A hidrólise foi conduzida 25ºC e pH de 5 como definido por Toralles et al. (2014). A concentração de proteínas foi determinada pelo método Lowry.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estabilidade da ILC livre em diferentes pHs

Na Figura 1 tem-se a estabilidade do extrato de invertase livre de levedura comercial de pão (ILC) a 10% em volume, durante 24 horas, a 25ºC e 50 rpm de agitação orbital. Esse estudo teve o objetivo de avaliar a perda de atividade da do extrato de ILC em diferentes pHs usados durante a sua imobilização. Após 24 horas de incubação, o extrato diluído em água reteve 80% de sua atividade inicial, seguido do extrato diluído em pH 10, retendo 47% da atividade da invertase; no pH 7 apenas 26%.

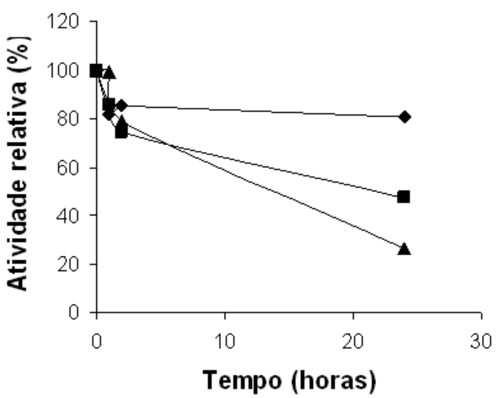


Figura 1. Estabilidade da invertase de levedura de pão. Os extratos purufucados foram diluidos em (◆) água, (■) em pH 10 e (▲) em pH 7. Todos foram incubados durante 24 horas a 25˚C rpm, com uma diluição final de 10% v/v.

As invertases apresentam uma ampla faixa de atuação para pH como mostra a Figura 1. No pH 10, apesar da atividade ser baixa, mostrou-se estável. Segundo Komesu et al. (2009), tal propriedade e pH facilitam a imobilização multipontos em diversos suportes, pois esse pH favorece à presença de grupos -NH_2, não iônicos, na superfície da enzima e, assim, favorável à imobilização.

3.2 Parâmetros de imobilização para ILC

Na Tabela 1 tem-se os parâmetros de imobilização da ILC utilizando gel de agarose-glioxil como suporte. Pode-se observar que na "carga" oferecida de proteína de 5,6 mg por grama de gel, em pH 10, foi onde se observou melhor rendimento de imobilização (44,7%) em termos de proteína fixada do suporte, mas tanto para a carga 1,4 como 2,8 mg de proteína por grama de gel, em pH 10, favoreceram maior recuperação de atividade. Por outro lado, a maior atividade (36 $U.mL^{-1}$) foi observada em pH 7, carga 3,0 mg de proteína por grama gel e atividade 180 U.mL.g gel $^{-1}$.

Gel[a] (g)	Carga[b] (mg/g gel^{-1})	pH	Recuperação (%)	RI (%)	Atividade ($U.mL^{-1}$)	Atividade ($U.mL^{-1}$. g de gel^{-1})
0,00	14,8	7,0	100	0	316,9	---
2,50	5,9	7,0	2,30	29,6	7,40	74,4
5,00	3,0	7,0	11,4	37,1	36,0	180,2
10,00	1,5	7,0	3,50	30,6	11,0	27,5
0,00	14,1	10,0	100	0	35,9	---
2,50	5,6	10,0	30,3	44,7	10,9	108,7
5,00	2,8	10,0	46,4	37,5	16,7	83,3
10,0	1,4	10,0	47,4	30,9	17,0	42,5

[a]Gel= gel de agarose-glioxil; [b]Carga= carga oferecida de proteína (mg) por gel de agarose-glioxil (g). Para cada tratamento de 'Gel' tem-se 2,5 mL de extrato de ILC e 22,5 mL de tampão no pH apropriado.

Tabela 1. Rendimento de imobilização da ILC (RI), atividade recuperada (AR) para diferentes cargas de proteínas oferecidas ao suporte de agarose-glioxil, com pH 7 e 10, de imobilização a 25oC e 50 rpm.

Os maiores valores para rendimento e recuperação da atividade foram observados em pH 10 concordando com a teoria dos grupos –NH_2 explicado anteriormente e, também, devido a estabilidade neste pH ser maior (Figura 1). Santos (2010), também trabalhando com invertase obtida de levedura comercial Fleischmann, encontrou rendimento superior para invertase imobilizada em bagaço de cana (59,83%) e inferior para imobilizada em sabugo de milho (21,40 %), sendo que ambos os resíduos agroindustriais foram submetidos a mesma técnica de imobilização resultando em suporte de resíduo-glioxil. O sistema de

imobilização gel de agarose-glioxil como suporte tem sido usado para outras enzimas. Komesu et al. (2009) comunicaram um RI de 60,5% e 66,8% de recuperação da atividade da xilanase comercial (EC 3.2.1.8), usando quitosana 2.5% ativada com epicloridrina.

3.3 Parâmetros cinéticos para invertase livre e imobilizada

Os parâmetros cinéticos para a velocidade de inversão da sacarose foram determinados para ILC livre e imobilizada por regressão não linear (Figura 2; Tabela 2) e observou-se um comportamento michaeliano para todos os tratamentos da Tabela1. Segundo Toralles et al. 2014, o valor de K_m é cerca de 24 mM sacarose para extrato bruto a 25ºC e pH 5, que é muito próximo ao encontrado por Andjelković et al. (2010) para mesma invertase de *S. cerevisiae.* Por outro lado, para o extrato purificado em acetona, o valor é cerca de quatro vezes menor, 6 mM. Tal fato indica que a purificação melhora a afinidade pela sacarose (Figura 2).

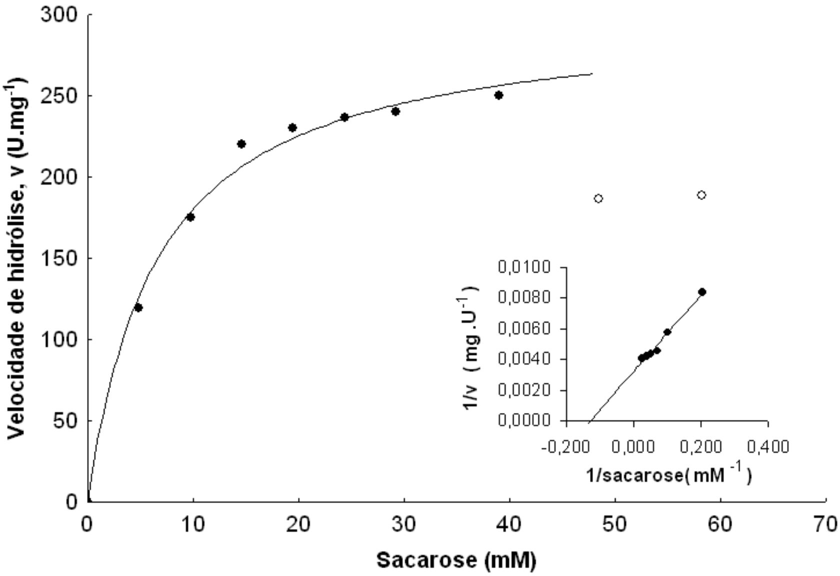


Figura 2. Efeito da concentração da sacarose na velocidade de hidrólise da invertase purificada de levedura comercial. Tampão McIlvaine pH 5. Temperatura: 25±0,1ºC. Enzima: 1,0 mL em 3,0 mL de meio reativo. Inserido: gráfico de Lineweaver-Burk. Os pontos representam a média de 3 repetições.

Para cada condição de imobilização apresentada na Tabela 1, observou-se um comportamento cinético diferenciado entre enzima imobilizada e a concentração do substrato ofertada com relação afinidade e especificidade (Tabela 2). Para adição de 5 gramas de gel de agarose-glioxil como suporte, a afinidade foi maior em pH 10 do que em pH 7 quando comparados os valores K_m (Tabela 2). Os valores $V_{máx}/K_m$, que é chamado de

coeficiente de especificidade, foram de cerca de 65,2 e 35,4 $U.mg^{-1}.mM^{-1}$, respectivamente, indicando que a invertase imobilizada, em suporte de agarose-glioxil em pH 10, tem cerca do dobro de especificidade do que a imobilizada em pH 7. Também nessa carga de gel foi que observou uma cinética favorável quando comparado com as demais cargas.

Alguns autores citam que a imobilização aumenta significativamente o valor de K_m (AKGÖL et al., 2001; RIBEIRO e VITOLO, 2005; ANDJELKOVIĆ et al., 2015). Por exemplo, Emregul et al. (2006), trabalhando com imobilização de invertase em gel de poliacrilamida em pH 7,2, encontraram 86 mM e 166 mM para invertase livre e imobilizada, respectivamente. Eles alegaram que o aumento de cerca de 1,92 no valor de K_m pode ser devido ao limitado acesso das moléculas de sacarose ao sítio ativo da enzima imobilizada. Tal fato pode ser a sua distribuição ao longo da camada do polímero utilizado para imobilização e sua modificação conformacional. No presente trabalho, os resultados indicam que a técnica de imobilização usada não afeta o valor de K_m quando comparados os valores da ILC imobilizada com a ILC livre da tabela, mas sim a carga ofertada, em miligramas de proteínas por grama gel, e, também, o pH de imobilização (Tabela 1 e 2).

Parâmetros	ILC livre	Invertase imobilizada em agarose-glioxil					
pH		7	7	7	10	10	10
Gel (g)	0	2,5	5,0	10	2,5	5,0	10
$K_m{}^a$ (mM)	6,61± 0,19**	98,6 ± 18,3**	5,95± 0,27**	39,6± 3,54**	27,7 ± 8,70 **	1,27 ± 0,31 **	18,1 ± 3,45 **
$V_{max}{}^a$ ($U.mg^{-1}$)	300,0 ± 0,94**	180 ± 21,2**	211 ± 2,01**	168,3 ± 6,82**	55,4 ± 4,82 **	81,4 ± 1,00 **	114 ± 5,89 **
V_{max}/K_m	45,4	1,82	35,4	4,24	2,00	65,2	6,33
R^2	0,99	0,98	0,90	0,93	0,98	0,97	0,98
Inibição	>20 mM	>78 mM	>58 mM	> 78 mM	>98 mM	>117 mM	>98 mM

Valor ± intervalo de confidência a p=0.05. **Significativo (p≤0,01). [ns] Não significativo.

Tabela 2. Constante de Michaelis (Km) e velocidade máxima (Vmáx) da invertase imobilizada de levedura comercial (ILC)

4 | CONCLUSÃO

Nas condições de imobilização (24 horas, 25°C e 50 rpm), a ILC livre é mais estável em pH 10. Também nesse pH é maior a recuperação da atividade após sua imobilização e maior o rendimento para carga ofertada de 2,8 miligramas de proteína por grama de gel, com coeficiente de especificidade (K_m/V_{max}) superior aos demais. Quando comparadas com extrato bruto, pode-se afirmar que a purificação aumenta 3-4 vezes a afinidade pela sacarose e 10 vezes a especificidade. Entre as imobilizadas, a afinidade é maior em pH 10, sendo que em todas condições observou-se comportamento michaeliano para invertase

livre e imobilizada. Finalmente, a carga ofertada de proteína por grama de gel e o pH de imobilização afetam a afinidade e especificidade da ILC.

REFERÊNCIAS

ANDJELKOVIĆ, U.; PIĆURIĆ, S.; VUJČIĆ, Z. Purification and characterisation of *Saccharomyces cerevisiae* external invertase isoforms. **Food Chemistry**, Davis, v. 120, n. 1, p.799-804, 2010. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.013.

AKGÖL, S. KAÇAR, Y. DENIZLI, A. ARICA, M. Hydrolysis of sucrose by invertase immobilized onto novel magnetic polyvinylalcohol microspheres. **Food Chemistry**, Davis, v. 74, n. 3, p. 281-288, 2001.

CARAVANTE, A. L. C. **Produção de açúcar invertido utilizando biorreator com invertase imobilizada em sabugo de milho**. 2013. 46f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Universidade Estadual Paulista. Araraquara. 2013.

EMREGUL, E.; SUNGUR, S.; AKBULUT, U. Polyacrylamide-gelatine carrier system used for invertase immobilization. **Food Chemistry**, Davis, v. 97. n.4, p.591-597, 2006.

GUISÁN, J.M. **Immobilization of enzymes as the 21st century begins**: an already solved problem or still an exciting challenge. In: GUISÁN, J.M. (Ed.). Immobilization of Enzymes and Cells. Totowa: Humana Press, 2006. Cap.1, p. 1-13.

KOMESU, A.; ADRIANO, W. S.; TARDIOLI, P.W.; GIORDANO, R.C. **Imobilização da enzima xilanase em agarose e quitosan utilizando diferentes protocolos de ativação**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA DA UFU, 8., Uberlândia, Minas Gerais-BR. 2009.

KOTWAL, S.M.; SHANKAR, V. Immobilized invertase. **Biotechnology Advances**, New York, v.27, n. 4, p.311-322, 2009.

RIBEIRO, R.R.; VITOLO, M. Anion Exchange resin as support for invertase immobilization. **Revistas Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.26, n. 3, p.175-179, 2005.

SANTOS, A. F. **Imobilização de invertase comercial de *Saccharomyces cerevisiae* em sabugo de milho e bagaço de cana de açúcar**. 2010. 95f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2010.

TORALLES, R.P.; KUHN, C.R.; SILVA, P.; RUIZ, W.A. Extração e Caracterização Parcial de Invertase de Levedura de Purê e Resíduo de Pêssego. **Revista Brasileira de tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v.8, n. 2, p.1399–1415, 2014.

CAPÍTULO 16

IRRIGADOR SOLAR: UMA ANÁLISE DO SEU DESEMPENHO SEGUNDO UMA DISTRIBUIÇÃO GAUSSIANA

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 01/02/2021

Lelis Araújo de Oliveira
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – IFPA
Abaetetuba - PA
http://lattes.cnpq.br/9001133154793053
https://orcid.org/0000-0001-6577-2800

RESUMO: O processo de maturação de alguns vegetais depende de muitos fatores, dentre os principais, estão a quantidade de luz solar recebida, na forma de radiação infravermelha, sendo a responsável por seu crescimento, e a quantidade de água que absorve durante os dias, que tem papel fundamental no processo bioquímico para a produção de energia pelo vegetal. Dependendo da região, se o cultivar recebe pouca ou muita radiação solar durante os dias e a forma como esse é irrigado, determinam seu crescimento e produção. Este artigo objetivou analisar o desempenho de um irrigador solar construído com materiais de baixo custo em uma pequena cultura de couve-flor, implementada em uma região localizada a 18 km da cidade de Abaetetuba durante os meses de março, abril, julho, agosto, novembro e dezembro. Os resultados mostraram que o irrigador teve melhor desempenho no mês de julho decorrente do equilíbrio entre as temperaturas (satisfazem uma distribuição Gaussiana), quantidade de água entregue e produção dos pés de couve-flor. Assim, verificou-se que o desempenho do irrigador solar não é fator determinante na produção deste tipo de cultura nas condições da pesquisa.

PALAVRAS-CHAVE: Irrigação, Distribuição Gaussiana, Produção Vegetal, Radiação Solar.

SOLAR IRRIGATOR: AN ANALYSIS OF YOUR PERFORMANCE ACCORDING TO A GAUSSIAN DISTRIBUTION

ABSTRACT: The process of maturation of some plants depends on many factors, among the main ones, are the amount of sunlight received, in the form of infrared radiation, being responsible for their growth, and the amount of water absorbed during the days, which has role in the biochemical process for the production of energy by the vegetable. Depending on the region, if the cultivar receives little or a lot of solar radiation during the days and how it is irrigated, they determine its growth and production. This article aimed to analyze the performance of a solar irrigator constructed with low cost materials in a small cauliflower culture, implemented in a region located 18 km from the city of Abaetetuba during the months of march, april, july, august, november and december. The results showed that the irrigator had better performance in the month of July due to the equilibrium between the temperatures (satisfying a Gaussian distribution), quantity of water delivered and production of cauliflower feet. Thus, it was verified that the performance of the solar irrigator is not a determinant factor in the production of this type of crop in the research conditions.

KEYWORDS: Irrigation, Gaussian Distribution, Vegetables Production, Solar Radiation.

1 I INTRODUÇÃO

A manutenção da vida em nosso planeta está ligada diretamente a água, mas seu uso intensivo tanto nas áreas urbanas quanto em atividades produtivas no campo, tem prejudicado os locais de onde são retiradas em condições de uso, (REBOUÇAS, 2003). A poluição também é outro fator que muitas vezes acarreta certo custo ao seu tratamento para o uso humano.

Pensando na economia de água em uso doméstico ou em pequenas áreas de produção agrícola foi montado a partir do trabalho de (Melo, 2016), um dispositivo que preconiza o mínimo possível de custo em sua confecção e que pode servir para a irrigação em pequena escala utilizando a energia abundante do sol sem necessidade do uso de energia elétrica.

Este é o irrigador solar, usa sifões acoplados (STREETER, 1975), cuja função é liberar água por gotejamento de maneira controlada e econômica em pequenas hortas com produção de diferentes culturas ou jardins. Trabalhos relacionados a esta temática podem ser vistos em (INSTALE um sistema de irrigação por gotejamento no jardim com garrafas plásticas, 2011; COMO fazer irrigação por gotejamento, c2013; Faça você mesmo: sistema de gotejamento com garrafa PET, 2011). Estes objetivam oferecer um roteiro de confecção de diferentes maneiras para o irrigador solar, porém este trabalho tem como foco o desempenho do equipamento confeccionado por (Melo, 2016).

O uso de tal dispositivo se apresenta como uma alternativa simples, barata e econômica para a irrigação de pequenas produções de culturas, além de sua função no desperdício de água.

De acordo com (MAY; TIVELLI; VARGAS; SAMRA et al., 2007), a temperatura é o principal fator climático que afeta a produção de couve-flor. É uma cultura típica do outono-inverno, exigindo temperaturas amenas ou mais baixas. Durante os últimos anos, com o melhoramento genético criou-se cultivares mais adaptadas a altas temperaturas, dando condições para o cultivo ao longo do ano e de regiões com climas mais severos.

As temperaturas registradas na pesquisa durante os meses obedecem a uma distribuição Gaussiana, onde se verifica qual foi a probabilidade de em um determinado mês o irrigador atingiu seu maior gradiente, em consequência maior quantidade de água fornecida as cultivares.

O range ótimo para o cultivo da couve-flor situa-se entre 16 a 25 ^{o}C, e com temperaturas acima de 27 ^{o}C pode provocar a não formação da inflorescência, em consequência disso baixa produção da cultura. O tempo médio de amadurecimento da couve-flor varia muito, mas de uma forma geral fica entre 45 e 280 dias, após a semeadura. Quanto à irrigação, a couve-flor precisar ser aguada com frequência, o solo deve estar sempre úmido, sem encharcamento. Este tipo de cultura é extremamente sensível à falta de água no solo, (MAY; TIVELLI; VARGAS; SAMRA et al., 2007).

Assim, o objetivo deste artigo foi avaliar em que mês o irrigador solar teve melhor desempenho sabendo que seu funcionamento efetivo ocorre em torno de 26º C, considerando o valor da média e variância mensal das máximas temperaturas. Esta avaliação se relaciona a quantidade de água entregue e também ao número de pés de couve-flor produzido durante os meses.

2 | METODOLOGIA

2.1 O Irrigador Solar

O irrigador solar tem como papel fundamental fornecer água de modo controlado de acordo com a variação da temperatura ambiente. Em sua montagem pode ser utilizados materiais recicláveis, como garrafas tipo (PET), de material *Politereftalato de Etileno*, garrafas de vidro, tubos de borracha, capas de fios elétricos, geralmente materiais que são descartados, os quais tem potencial de poluidores do meio ambiente, mas aqui servem com matéria prima para a aplicação prática e econômica do dispositivo.

A Figura 1 mostra o desenho esquemático das partes constituintes do irrigador solar.

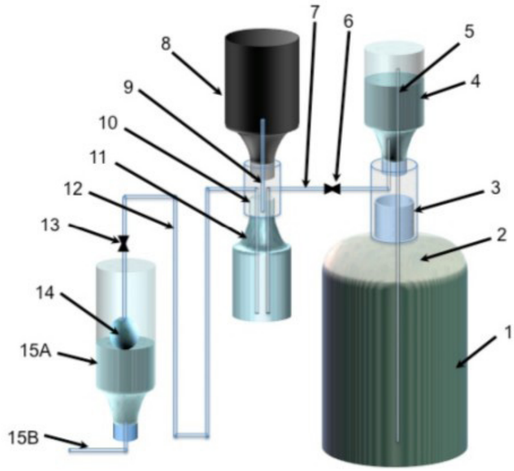


Figura 1. Desenho esquemático do irrigador solar.

A Tabela 1 traz a descrição de cada número e seus respectivos nomes, os quais identificam as peças que são necessárias para a confecção do irrigador. O processo de montagem completa pode ser encontrado em (Melo, 2016).

Número	Nome
1	Recipiente primário
2	Funil de acoplamento ao recipiente (1)
3	Acoplador dos recipientes (1) e (4)
4	Recipiente secundário
5	Duto de sucção
6	Válvula
7	Duto alimentador
8	Pressurizador ou bomba solar
9	Tubo de escape do ar quente
10	Acoplador dos recipientes (8) e (11)
11	Recipientes de saída
12	Duto gotejador ou sifão duplo
13	Válvula de saída do sifão (11)
14	Boia
15A	Garrafa coletora (distribuidor)
15B	Duto de saída

Tabela 1. Descrição das peças do irrigador solar.

O funcionamento do irrigador solar está relacionado ao processo físico chamado de Termohidrodinâmica, uma vez que a impulsão da água se dá por aquecimento do ar de um dado recipiente para o sifão, (STREETER, 1975). O processo ocorre por sifões que são acionados pela pressão do ar aquecido. Na Figura 1, a garrafa pintada de preto, ao receber radiação solar sofre aquecimento, que por sua vez, transmite o calor para o ar no seu interior. O ar aquecido se expande e exerce pressão em seu interior. O tubo (9) possibilita a passagem do ar quente, empurrando a água do interior do recipiente (11). A água impulsionada tende a fluir pelos dutos (7) e (12). Através do duto (7), a água vai para a garrafa (4) e fica presa, enquanto que pelo duto (12) a água chega à saída na forma de gotas ou de fluxo, a Figura 2 mostra o irrigador solar já confeccionado.

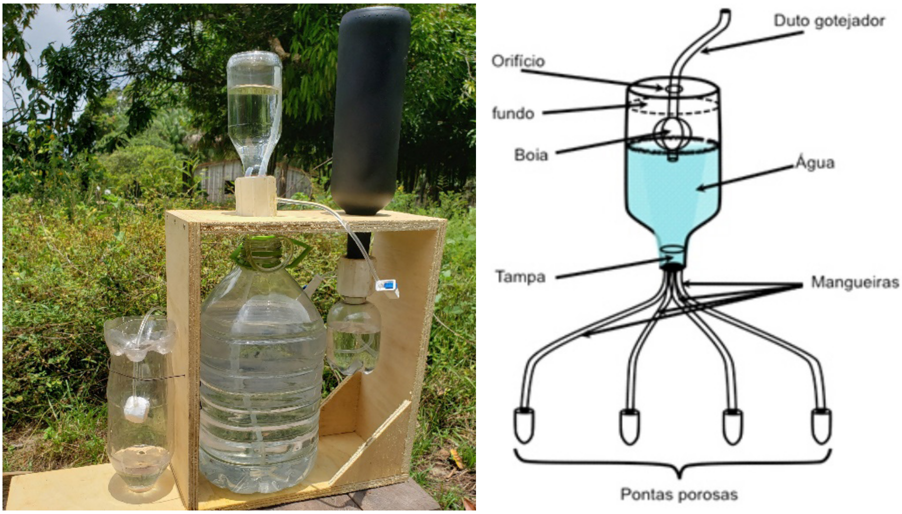


Figura 2. Irrigador solar evidenciando-se as partes principais.

2.2 Distribuição Gaussiana

De uma forma geral, a distribuição Gaussiana é a mais importante na teoria da probabilidade, entende-se a variável aleatória *X* como sendo um número de componentes, com distribuição tendendo a uma distribuição normal à medida que o número se torna muito grande.

A densidade de probabilidade é definida por (ASSIS; NETO; MANFRON; MARTIN et al., 2004):

$$f_X(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} e^{-\left(\frac{1}{2}\right)[(x-\mu)/\sigma]^2}, \quad (1)$$

sendo μ a média ou esperança e σ^2 a variância. A esperança μ de uma variável *X* que siga o modelo Gaussiano assume qualquer valor compreendido entre $-\infty < m > \infty$. A variância de uma variável aleatória *X* só pode ter valores acima de zero, isto é $\sigma^2 > 0$. μ e σ^2 são parâmetros do modelo Gaussiano.

A distribuição normal, também assim chamada tem muitas aplicações, sendo muito utilizada na aproximação para distribuição de valores contínuos que exibem um comportamento muito particular quando visualizamos a distribuição de frequências de seus valores, como os valores de temperaturas durantes as horas do dia, por exemplo, um dos objetos deste trabalho. Sendo assim, devemos assegurar que os valores de probabilidades sejam determinados com bastante precisão.

A curva Gaussiana (ou curva Normal) depende apenas dos parâmetros μ e σ^2, graficamente é representado segundo a Figura 3.

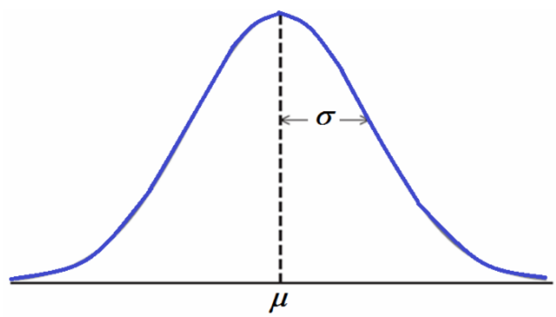


Figura 3. Um exemplo da curva de distribuição Gaussiana.

Neste trabalho a variável aleatória X refere-se aos valores de temperatura T e a densidade de frequências a $f_T(t)$, Equação 2.

$$f_T(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\,\sigma}} e^{-\left(\frac{1}{2}\right)[(t-\mu)/\sigma]^2} \quad . \tag{2}$$

O cálculo direto das probabilidades requer uma matemática mais avançada, porém o problema pode ser facilmente contornado, basta considerar que a variável aleatória T com distribuição normal que tem média μ e desvio padrão σ, utiliza-se a Equação 3.

$$Z = \frac{t-\mu}{\sigma}, \tag{3}$$

que é chamada de distribuição normal reduzida, em outras palavras, tem uma distribuição de normal com média 0 e variância 1.

Como os valores de temperatura são aleatórios e contínuos, o processo estocástico Gaussiano oferece mais respostas, se tratando das distribuições de probabilidades para este tipo pesquisa realizada.

2.3 Materiais e Métodos

Os testes com o irrigador solar foram realizados durante os meses de março, abril, julho, agosto, novembro e dezembro do ano de 2018. Os meses foram escolhidos desta forma, pois a cultura de couve-flor, (MAY; TIVELLI; VARGAS; SAMRA et al., 2007) leva em torno 45 a 280 dias para amadurecer e representam diferentes estações do ano, onde no outono os meses de março e abril, no inverno os meses de julho e agosto e na primavera os meses de novembro e dezembro.

A área escolhida para os testes fica localizada a 18 km do Instituto Federal do Pará (IFPA) campus Abaetetuba, ROD PA 252 RD 151 km 17, vila Cupuaçu. Em um local destinado à horta de plantio de hortaliças. A área tem dimensões de 6 m de extensão por 2 m de largura e as cultivares lá semeadas foram espaçadas de (0,45 x 0,45) m com o

irrigador solar posicionado como mostrado na Figura 4. Pelas informações da área e suas dimensões foram semeadas 56 pés de couve-flor.

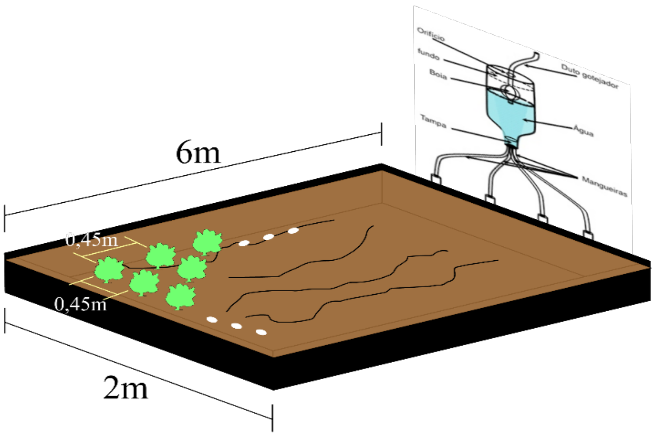


Figura 4. Desenho esquemático do arranjo das cultivares e o irrigador solar.

Os dados de temperatura máxima e mínima da localidade foram retirados do banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), eles podem ser visitados em (Instituto Nacional de Meteorologia, 2019). Das temperaturas, apenas dos primeiros 30 dias de cada mês foram utilizados, tudo isto para facilitar o tratamento das informações, o dia 31 do mês julho, por exemplo, foi descartado.

O trabalho teve como foco avaliar em que mês o irrigador teve melhor desempenho, haja vista que seu funcionamento efetivo ocorre em torno 26 ^{o}C, e o ar dentro da garrafa preta precisa ser aquecido para poder realizar trabalho e impulsionar a água para fora dos recipientes de gotejamento. A partir dessas informações foram comparados o seu desempenho decorrente da variação de temperatura com a quantidade de água despendida e a produção de couve-flor por mês.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Esta seção foi dividida em duas partes, a saber: a primeira traz os valores de mínima e máxima temperatura para cada um dos meses e a segunda exibe as densidades de probabilidades para certa faixa temperaturas, verificando valores de melhor desempenho do irrigador solar com um comparativo entre densidades de probabilidades, indicando o mês com melhor desempenho do irrigador com a quantidade de água despendida e a produção da cultura de couve-flor.

3.1 As Variações de Temperatura na Região da Pesquisa

As Figuras 5, 6, 7, 8, 9 e 10 mostram os valores de temperaturas máximas e mínimas respectivamente para os meses de março, abril, julho, agosto, novembro e dezembro.

Dessas, observemos que o comportamento das temperaturas mínima e máxima são praticamente idênticas nos dias variando em torno de 1,5 °C entre ambas. A média de temperaturas para cada mês fica em torno dos 26,5 °C, com exceção do mês de agosto, o qual a média fica por volta dos 29 °C. Estas médias de temperaturas são ideais para o funcionamento do irrigador solar, como dito antes seu funcionamento é próximo da temperatura do 26 °C e acima desta temperatura fornece mais água para a cultura, melhorando seu funcionamento.

Os meses de março e abril acompanham a estação do outono, com temperaturas não muito elevadas, porém nem muito baixas. Os meses de novembro e dezembro também seguem a estação da primavera, mas com um início de dezembro com características de verão. O mês de julho apresenta alguns dias com características de inverso, com baixas temperaturas e um clima mais ameno, contudo o mês de agosto, Figura 8, apresenta altas temperaturas até aproximadamente o dia 16, quando na verdade deveria acompanhar as temperaturas mais baixas. Essas pequenas diferenças nas temperaturas refletiu no funcionamento do irrigador.

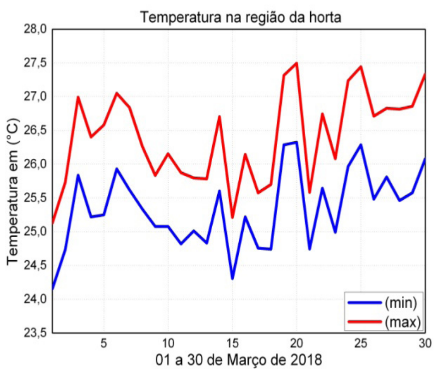


Figura 5. Temperaturas do mês de março.

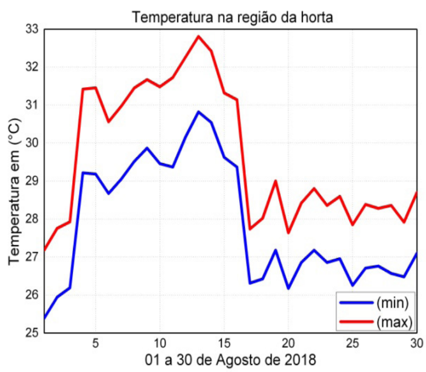


Figura 8. Temperaturas do mês de agosto.

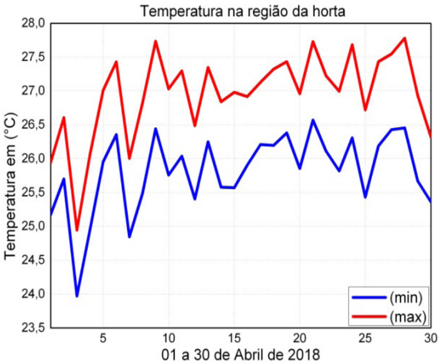


Figura 6. Temperaturas do mês de abril.

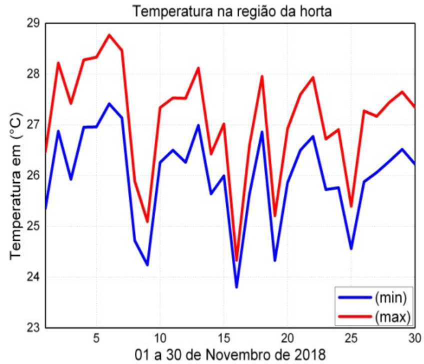


Figura 9. Temperaturas do mês de novembro.

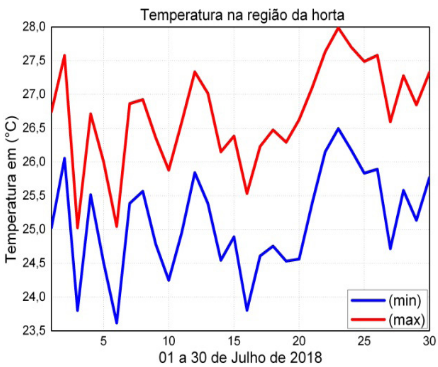


Figura 7. Temperaturas do mês de Julho.

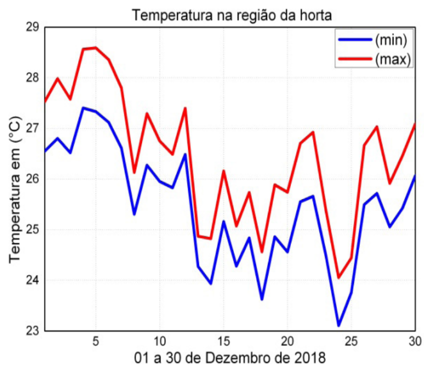


Figura 10. Temperaturas do mês de dezembro.

3.2 Desempenho do Irrigador Versus Água Despendida e Produção da Cultura

A Figura 11 mostra a distribuição de probabilidades em relação às médias e variâncias das temperaturas máximas para os meses de março, abril, julho, agosto, novembro e dezembro. Não compilamos os dados das distribuições de probabilidades para as mínimas temperaturas, pois apenas dois meses ficaram com médias um pouco acima da temperatura ideal de funcionamento do irrigador solar, portanto seria inviável a análise apenas contabilizando dois meses e a pesquisa não teria base para as discussões.

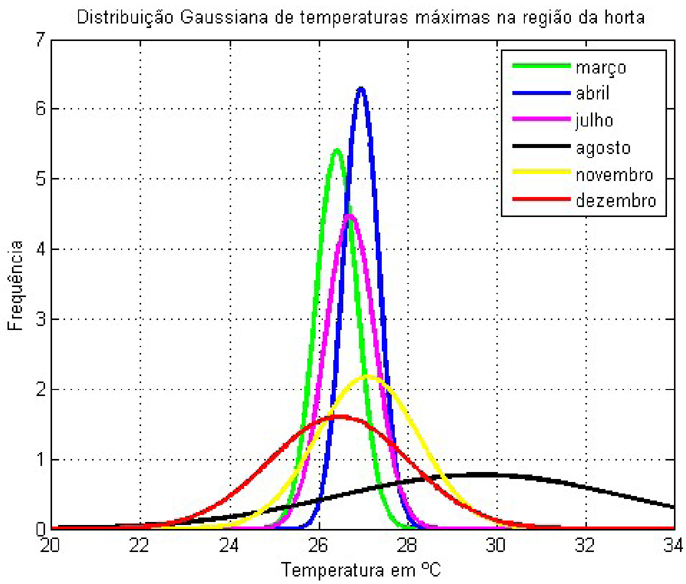


Figura 11. Distribuição de probabilidades das temperaturas máximas para os meses março, abril, julho, agosto, novembro e dezembro.

Para analisar o desempenho do irrigador determinamos as probabilidades em duas situações: a primeira de a temperatura ser acima que 27 °C, pois foi importante analisar essas probabilidades, já que acima de 27 °C a produção de couve-flor poderia ser prejudicada por não formar a inflorescência, em virtude disto a produção não seria relevante. A segunda de as temperaturas estarem entre 25 °C e 27 °C, importante também analisar, uma vez que o desempenho do irrigado solar se fixou em torno de 26 °C, além disso, a média das temperaturas dos meses, com exceção do mês de agosto, Figura 8, foram próximas deste valor, Tabela 2.

Meses	**P(t > 27)**	**P(25 < t < 27)**
Mar	10,20	89,68
Abr	45,62	54,38
Jul	30,50	69,50
Ago	79,10	13,26
Nov	53,59	42,97
Dez	36,69	45,69

Tabela 2. Valores das probabilidades em (%) para temperaturas entre 25 e 27 °C e acima de 27° C para os meses de março, abril, julho, agosto, novembro e dezembro.

Na Tabela 2, são apresentados os valores de probabilidades para os seis meses. Observemos que no mês de março a probabilidade de termos temperaturas acima de 27 °C foi de aproximadamente 10 %, e entre 25 °C e 27 °C, cerca de 90 %, indicando que o funcionamento do irrigador solar foi limitado a temperaturas abaixo de 27 °C e acima de 25 °C. Isto pode fazer mais sentido verificando a Figura 11, onde para uma média aproximadamente de 26,5 °C há uma frequência de temperaturas de 5 valores, além de uma pequena variância em relação a média, e na Tabela 3, onde a quantidade de água entregue foi muito inferior ao mês de agosto, por exemplo, que teve maior entrega de água entre todos os meses pesquisados, foi o sêxtuplo de consumo, decorrente das altas temperaturas. Por outro lado, verificou-se que o mês de março teve uma boa produção de couve-flor, 40 de um total de 56 pés.

Meses	Desempenho	Quantidade de água (litros)	Produção (pés)
Março	Bom	490	40
Abril	Muito Bom	973	44
Julho	Excelente	784	49
Agosto	Razoável	3021	23
Novembro	Bom	1310	31
Dezembro	Bom	572	37

Tabela 3. Dados coletados durante os meses de pesquisa.

Portanto, para o mês de março, o irrigador foi considerado com desempenho bom, uma vez que despendeu pouca água comparado aos demais meses e produziu relativamente bem, Tabela 3. Acreditamos que o irrigador solar aqueceu de forma discreta ao ponto de não fornecer muita água, tornando-se relativamente insuficiente para que os pés de cultivares crescessem adequadamente.

Para o mês de agosto, de acordo com a Tabela 2 foi o que mais proporcionou em termos de temperatura, água para as cultivares através do irrigador solar. Observemos que as probabilidades de termos temperaturas acima de 27 °C foi de aproximadamente 80 %, e entre 25 °C e 27 °C, cerca de 13 %, indicando que o irrigador solar, do tempo que passou funcionando, boa parte foi com temperaturas acima de 27 °C e funcionou de forma bem discreta, próximo da temperatura de seu início de funcionamento, 26 °C.

Na Figura 11, é possível observar que a média de temperaturas para o mês de agosto ficou em torno dos 29,5 °C aproximadamente, tendo uma grande dispersão quando comparado aos outros meses. Na Tabela 3 vemos que o irrigador forneceu muita água comparado ao mês de março, por exemplo, em temos de funcionamento, o irrigador foi muito bem, mas em temos de produção foi o que teve a pior classificação. Acreditamos que com as altas temperaturas, embora tenha tido bastante água entregue pelo irrigador, uma

vez que seu funcionamento é potencializado por essas temperaturas, a produção não foi satisfatória, com 23 pés de um total de 56. Vale ressaltar que a quantidade de água entregue pelo irrigador por elevadas temperaturas pode ser prejudicada pela simples evaporação. Além disso, a maturação das cultivares para essas temperaturas foram prejudicadas pela não formação da inflorescência, (MAY; TIVELLI; VARGAS; SAMRA et al., 2007).

Assim, para o mês de agosto, o irrigador foi considerado com desempenho razoável, pois forneceu bastante água comparado aos demais meses, contudo comparativamente a produção não foi tão bem este mês. Acreditamos que o irrigador solar aqueceu bastante ao ponto de fornecer muita água, mas foi insuficiente para que os pés de cultivares crescessem adequadamente.

O mês de Julho, Tabela 2, diferente dos outros meses, teve chance de aproximadamente 30 % das temperaturas estarem acima de 27 ^{o}C e cerca de 70 % entre o range de 25 ^{o}C e 27 ^{o}C. Isto mostra que o irrigador funcionou de forma satisfatória para as duas faixas de temperaturas consideradas na pesquisa. Isto pode ser verificado com uma média de temperatura de 26,7 ^{o}C, e variância bem pequena em torno de 0,5 ^{o}C, segundo a Figura 11.

Na Tabela 3 verifica-se que a quantidade de água entregue pelo irrigador solar foi um quarto a mais que no mês de março, e a produção foi classificada como a melhor comparada aos demais meses com 49 de um total de 56 pés de couve-flor.

Portanto, para o mês de julho, o irrigador foi considerado com desempenho excelente, uma vez que forneceu relativamente um pouco a mais de água comparado ao demais meses e produziu muito bem, Tabela 3. O irrigador solar aqueceu de forma ideal para seu funcionamento propriamente dito ao ponto de fornecer 1/4 de água a mais que o mês com menor desperdício (março), tornando-se excelente em seu funcionamento bem (equilibrado) e com uma produção acima da média.

4 | CONCLUSÕES

Um descritivo do irrigador solar foi feito com a intenção de possibilitar uma alternativa para o desperdício da água em pequenas produções de hortaliças e sobre tudo utilizando a energia proveniente do sol, sem o uso de energia elétrica. Esse teve seu funcionamento potencializado no mês de agosto, prejudicado no mês de março e equilibrado no mês de julho, nos demais meses não tivemos consideráveis alterações nas Gaussianas de distribuição de temperatura.

Concluímos então, que o desempenho do irrigador solar não é fator determinante na produção deste tipo de cultura nas condições da pesquisa, embora tenha despendido bastante água no mês de agosto não produziu o suficiente, comparado ao mês de julho que forneceu três vezes e meia a menos, e produziu mais da metade das cultivares.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – IFPA - Campus Abaetetuba.

REFERÊNCIAS

ASSIS, J. d.; NETO, D. D.; MANFRON, P. A.; MARTIN, T. et al. **Ajuste de séries históricas de temperatura e radiação solar global diária às funções densidade de probabilidade normal e log-normal**. Piracicaba, SP. Revista Brasileira de Agrometeorologia, Santa Maria, 12, n. 1, p. 113-121, 2004.

COMO fazer irrigação por gotejamento. Berlin: Global Leads Group GmbH, c2013. Disponível em: <http://www.assimsefaz.com.br/sabercomo/como-fazer-irrigacao-por-gotejamento>. Acesso em 2 jan. 2018.

ECODESENVOLVIMENTO. **Faça você mesmo: sistema de gotejamento com garrafa PET**. 2011. Disponível em: <http://www.ecodesenvolvimento.org/voceecod/faca-voce-mesmo-sistema-de-gotejamento-com-garrafa>. Acesso em: 13 de janeiro de 2016.

INSTALE um sistema de irrigação por gotejamento no jardim com garrafas plásticas. Palmas, 08 nov. 2011. Blogg: Energias limpas e sustentabilidade. Autores do blogg: Chryss Macêdo e Julio Cesar Moreira. Disponível em: <http://energiaslimpasesustentabilidade.blogspot.com.br/2011/11/irrigacao-por-gotejamento-com-garrafa.html>. Acesso em: 4 janeiro 2018.

Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Disponível em:< http://www.inmet.gov.br/sonabra/maps/pg_automaticas.php>. Acesso em 03 dezembro 2019.

MAY, A.; TIVELLI, S.; VARGAS, P.; SAMRA, A. et al. **A cultura da couve-flor**. Campinas: IAC (Boletim Técnico, 200), 2007.

MELO, W. d. B. **Irrigador solar: instruções de montagem e de funcionamento**. Embrapa Instrumentação-Documentos (INFOTECA-E), 2016.

REBOUÇAS, A. d. C. Água no Brasil: abundância, desperdício e escassez. Bahia análise & dados, 13, p. 341-345, 2003.

STREETER, V. **Mecânica dos Fluidos**, trad. de Muniz, GS e outros: McGraw Hill do Brasil Ltda, São Paulo 1975.

CAPÍTULO 17

ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO A PARTIR DE RESÍDUOS PROVENIENTES DO SISTEMA DIGESTIVO DO PEIXE CURIMBATÁ

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 02/03/2021

Samille Henriques Pereira
Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Ouro Preto
Ouro Preto, MG/Brasil
http://lattes.cnpq.br/9764323250863589

Renata Carolina Zanetti Lofrano
Departamento de Engenharia Química e Estatística. Universidade Federal de São João Del Rei. Campus Alto Paraopeba - C.A.P
Ouro Branco ,MG/Brasil
http://lattes.cnpq.br/5561482457720983

Boutros Sarrouh
Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos. Universidade Federal de São João Del Rei. Campus Alto Paraopeba - C.A.P
Ouro Branco, MG/Brazil
http://lattes.cnpq.br/7204534064025448

RESUMO: Os microrganismos isolados de ambientes aquáticos apresentam potencial biotecnológico significativo. O aumento no consumo de peixes pela população mundial gera resíduos provenientes do processo de evisceração, provocando danos ambientais. Sendo assim, esse trabalho teve por objetivo isolar e identificar microrganismos encontrados no trato digestivo do peixe Curimbatá. Inicialmente, os resíduos do trato digestivo foram gentilmente doados pelo Prof. Luiz Gustavo Silva/UFSJ e colocado em solução salina e inoculado em meio ágar nutriente. As colônias crescidas foram identificadas pelo teste de Gram e pelo crescimento em meios seletivos. Dentre as colônias isoladas (BI1, BI2, BI3, LE1, BE2), foram identificadas quatro bactérias (BI1 e BE2 Gram-positivas e BI2 e BI3 Gram-negativas) e uma levedura. As bactérias BI1 e BE2 indicaram serem estafilococus positivo para coagulase, já a bactéria BI3 indicou estafilococus negativo para coagulase. A levedura LE1 indicou ser capaz de fermentar lactose. Em relação à atividade enzimática, BI1, BI3 e LE1 apresentaram atividade tanásica, todos os microrganismos apresentaram atividade celulolítica e apenas a LE1 apresentou atividade para fenoloxidase. Conclui-se que, o isolamento de microrganismos a partir de resíduos da indústria pesqueira mostrou-se uma alternativa sustentável e a obtenção de enzimas de interesse biotecnológico promissora para aplicação industrial.

PALAVRAS-CHAVE: Resíduos de peixe, enzimas industriais, testes bioquímicos.

ISOLATION OF MICROORGANISMS OF BIOTECHNOLOGICAL INTEREST FROM *PROCHILODUS LINEATUS* FISH RESIDUES

ABSTRACT: Microorganisms isolated from aquatic environments present significant biotechnological potential. The increase in fish consumption by the world population generates residues from the evisceration process, causing environmental damages. Therefore, this work aimed to isolate and identify microorganisms found in residues of Prochilodus lineatus

fish (Curimbatá fish), kindly donated by Prof. Dr, Luiz Gustavo Martins da Silva (Federal university of São João del-Rei/Brazil). These were morphologically identified as intestine and stomach and placed in saline solution and inoculated in nutrient agar medium. The colonies grown were identified by the Gram test and growth in selective media. Among the isolated colonies (BI1, BI2, BI3, LE1, BE2), four bacteria (BI1 and BE2 Gram-positive and BI2 and BI3 Gram-negative) were identified and one yeast. The bacteria BI1 and BE2 indicated to be staphylococci positive for coagulase, whereas the BI3 bacterium indicated staphylococci negative for coagulase. LE1 yeast indicated to be capable of fermenting lactose. In relation to the enzymatic activity, BI1, BI3 and LE1 presented tanase activity, all microorganisms presented cellulolytic activity and only LE1 showed activity for phenoloxidase. It is concluded that the isolation of microorganisms from fishery residues has proved to be a sustainable alternative and the obtainment of enzymes of biotechnological interest promising for industrial application.
KEYWORDS: Fish residues, microorganism isolation, enzymatic activity, biochemical identification.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui um potencial significativo para a piscicultura, devido à vasta extensão territorial que dispõe de aproximadamente 13% das águas doces do planeta, pelas condições naturais e pelo clima favorável para o desenvolvimento de uma diversidade de espécies aquáticas, disponibilidade de infraestrutura de apoio e outras condições (Souza et al., 2013).

Cada vez mais os peixes são introduzidos na dieta da população e isso gera um aumento da produção e do consumo. Esse aumento está diretamente relacionado à geração de resíduos proveniente principalmente do processamento do peixe para consumo, sua evisceração, com ônus ambiental (FAO, 2012).

O sistema digestivo dos peixes é considerado como uma fonte promissora para o isolamento de microrganismos com atividade enzimática de interesse industrial, a utilização de enzimas digestivas como catalisadores de processos industriais é de fundamental importância para a obtenção de produtos de alta qualidade e de maior valor agregado através da utilização de tecnologias limpas, e em sintonia com as necessidades tecnológicas, de mercado e de preservação ambiental que norteiam os processos produtivos internacionais (Buller, 2004). Os Curimbatás (*Prochiloduslineatus)* são peixes abundantes e correspondem à maior parte da biomassa ictiológica dos grandes corpos de água. São peixes detritívoros, alimentam-se de restos orgânicos, como sedimentos orgânicos e vegetais (Castro&Vari, 2011).

As enzimas apresentam características que se destacam quando comparadas aos catalizadores químicos devido a sua especificidade pelo substrato ou por uma reação bioquímica (Monteiro&Silva, 2009). O setor industrial sofre constante pressão para utilização de processos que beneficiam o meio ambiente, tornando assim seu produto mais

competitivo. Com isso, o uso de enzimas nos diferentes segmentos da indústria tem sido amplamente estudado (Monteiro&Silva, 2009; Bom et al., 2008).

Entre as enzimas de interesse industrial produzidas por bactérias e avaliadas neste estudo estão as celulases utilizadas na degradação de biomassa ligocelulósica, as tanases que hidrolisam ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis e as fenoloxidases que degradam lignina, estas de grande interesse para o uso em biorrefinarias.

Este trabalho teve como objetivo isolar microrganismos do sistema digestivo de peixes Prochilodus lineatus e expressão das enzimas tanase, celulase e fenoloxidase pelos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento e cultivo de bactérias do estômago e intestino do peixe Curimbatá

Os órgãos do peixe Curimbatá foram conservados em solução salina 0,85%. A partir desta solução, foram realizadas diluições seriadas decimais. De cada diluição, retirou-se 100μl e transferiu-se para placas de Petri contendo meio Ágar Nutriente, contendo 3 $g.L^{-1}$ de extrato de carne, 5 $g.L^{-1}$ de peptona e 15 $g.L^{-1}$ de ágar. As placas foram incubadas por 5 dias a 36°C. Após o crescimento das bactérias, as colônias foram selecionadas, isoladas e repicadas para placas de Petri contendo o mesmo meio.

Teste de Gram

Para avaliar grande grupo as bactérias isoladas pertenciam, foi realizado o teste de coloração de Gram. Primeiramente foi preparado um esfregaço em uma lâmina de vidro com uma porção de bactérias e uma gota de água destilada, após secar a lâmina foi passada no bico Bunsen para fixação da amostra. Foram adicionadas algumas gotas de cristal violeta por 1 minuto e depois lavou-se com água destilada. Em seguida adicionou-se solução de lugol por 1:30 minutos e depois lavou-se com água destilada. Rapidamente a lâmina foi lavada com álcool absoluto e posteriormente com água destilada. Adicionou-se corante safranina por 30 segundos e lavou-se novamente com água destilada. As lâminas foram secadas com cuidado para não remover o esfregaço e examinadas em microscópio ótico.

Crescimento em meios seletivos

Para a caracterização bioquímica das bactérias isoladas, as mesmas foram crescidas em meios sintéticos seletivos. O primeiro meio avaliado foi o Ágar Eosina [10 $g.L^{-1}$ de peptona de carne, 3 $g.L^{-1}$ de lactose, 2 $g.L^{-1}$ de fosfato dipotássico, 0,4 $g.L^{-1}$ de eosina Y, 0,065 $g.L^{-1}$ de azul de metileno, 5 $g.L^{-1}$ de sacarose e 15 $g.L^{-1}$ de ágar]. O segundo meio foi o Ágar Manitol [10 $g.L^{-1}$ de protease peptona nº 3, 1 $g.L^{-1}$ de extrato de carne, 10 $g.L^{-1}$ de D-manitol, 75 $g.L^{-1}$ de cloreto de sódio, 0,02 $g.L^{-1}$ de vermelho de fenol e 15 $g.L^{-1}$ de ágar]. O terceiro meio testado foi o Simmons Citrate [0,20 $g.L^{-1}$ de sulfato de magnésio,

1 $g.L^{-1}$ de di-hidrogenofosfato de amônio, 1 $g.L^{-1}$de fosfato dipotássico, 5 $g.L^{-1}$ cloreto de sódio, 2 $g.L^{-1}$de citrato de sódio e 0,08 $g.L^{-1}$ de azul de bromotimol]. Após 5 dias inoculadas a 36°C, foi analisado a fermentação de cada colônia nos meios em estudado.

Testes qualitativos da atividade enzimática dos microrganismos isolados

Para avaliar a atividade da enzima tanase, os microrganismos foram inoculados em meio sintético enriquecido com 1% ácido tânico [3,0 $g.L^{-1}$ $NaNO_3$, 1,0 $g.L^{-1}$ $(NH_4)_2SO_4$, 0,5 $g.L^{-1}$ $MgSO_4$, 0,5 $g.L^{-1}$KCl, 10 $mg.L^{-1}$ $FeSO_4.7H_2O$, 10 $g.L^{-1}$ ácido tânico, 30 $g.L^{-1}$ ágar], por 5 dias a 36°C . Após este período mediu-se o diâmetro dos halos castanhos formados em voltas das colônias, indicando a degradação do ácido tânico (NADAF, GHOSH, 2011).

Para realizar a avaliação qualitativa da atividade da celulase, os microrganismos isolados foram transferidos com o auxílio de uma alça para o meio sintético descrito anteriormente enriquecido com 1% de carboximetilcelulose (Bortolazzo, 2011). Para a visualização do halo de hidrólise, a superfície da placa foi coberta com uma solução de vermelho congo 0.1% por 30 minutos, em seguida o excesso foi descartado e a placa foi lavada com uma solução de NaCl 1,0M,. Os halos translúcidos formados, que indicam a atividade da celulase, foram medidos com auxílio de um paquímetro.

Para avaliar a produção da enzima fenoloxidase, os microrganismos isolados foram incubados em meio ágar malte acrescido de 0,5% de ácido gálico [30 $g.L^{-1}$ de ágar malte, 5 $g.L^{-1}$ ácido gálico; 30 $g.L^{-1}$ ágar], durante 5 dias a 36°C. Decorrido este período, mediu-se o diâmetro dos halos de cor âmbar formados em volta da colônia, que comprovam a ação da fenoloxidase (Conceição et al.,2005).

Para a determinação enzimática extracelular por difusão radial em meio sólido, avaliou-se a relação direta entre o diâmetro médio do halo de degradação e o diâmetro médio da colônia expressa como índice enzimático (IE). Segundo Lealem&Gashe (1994) para considerar um micro-organismo bom produtor de enzimas extracelular o índice enzimático deve ser maior ou igual a 2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a etapa de isolamento e cultivo dos microrganismos, foram obtidas colônias de cinco cepas diferentes. Estas foram identificadas com os seguintes códigos: BI1 (bactéria 1 isolada do intestino), BI2 (bactéria 2 isolada do intestino), BI3 (bactéria 3 isolada do intestino), LE1 (levedura 1 isolada do estômago) e BE2 (bactéria 2 isolada do estômago). Na Figura 1 encontram-se as colônias isoladas dos órgãos do peixe Curimbatá e seus respectivos códigos.

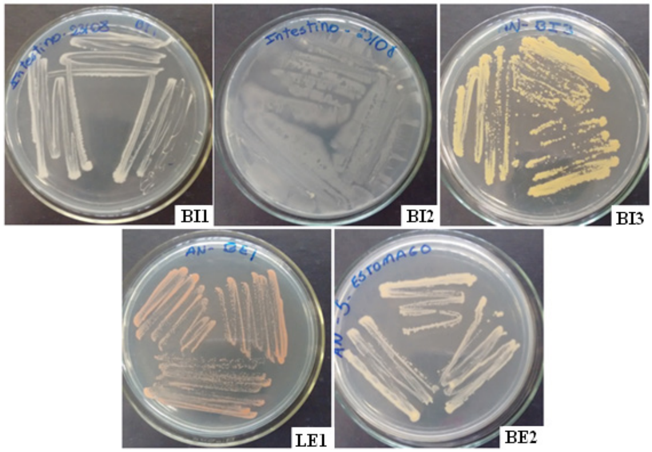


Figura 1. Cepas de microrganimos isolados do intestino e estômago do peixe Curimbatá

Após a preparação dos esfregaços, as amostras foram observadas em microscópio optico com aumento de 1000X. Na Figura 2 é possível observar as imagens obtidas por microscopia e na Tabela 1 os resultados encontrados.

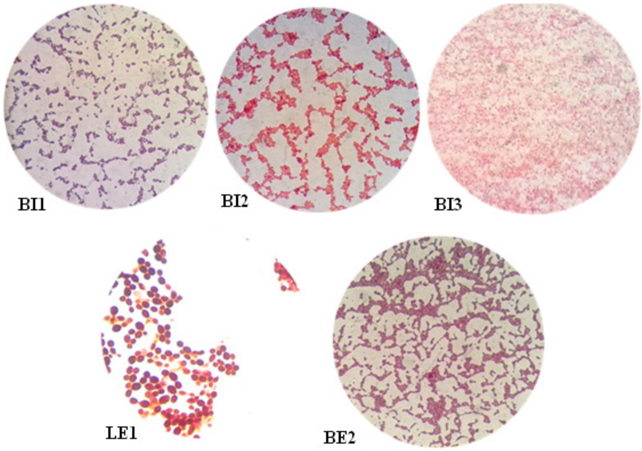


Figura 2.Visualização microscópica da coloração de Gram dos microrganismos isolados.

Microrganismo	Coloração	Classificação
BI1	Roxo	Bactéria Gram Positivo
BI2	Vermelho	Bactéria Gram Negativo
BI3	Vermelho	Bactéria Gram Negativo
LE1	-	Levedura
BE2	Roxo	Bactéria Gram Positiva

Tabela 1. Resultado do teste de coloração de Gram para os microrganismos isolados

Por meio da coloração de Gram, foi possível dividir as colônias encontradas em dois grandes grupos, as Gram-positivas e as Gram-negativas. Observou-se uma heterogeneidade entre as bactérias, visto que duas pertencem às Gram-positivas (BI1 e BE2) e duas às Gram-negativas (BI2 e BI3). Ao realizar esse teste também foi possível determinar que a colônia LE1, devido à estrutura morfológica e o tamanho das suas células, trata-se de uma levedura.

Teste de identificação bioquímica

Na Figura 3, observa-se o crescimento em meio Ágar Eosina/Lactose, na Figura 4 o crescimento em meio Simmons Citrate e na Figura 5 o crescimento em meio Ágar Manitol.

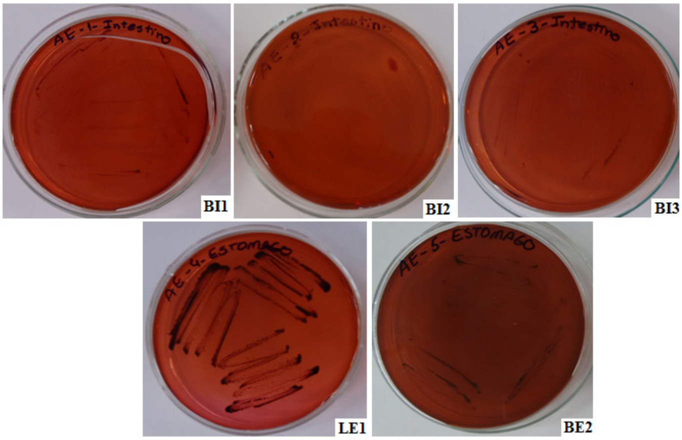


Figura 3. Linhagens dos microrganismos isolados do intestino e estômago do peixe Curimbatá após 5 dias de incubação em meio Ágar Eosina/Lactose

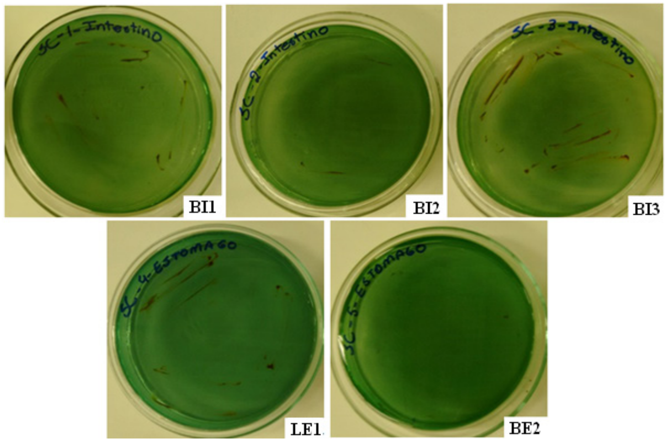


Figura 4. Linhagens dos microrganismos isolados do intestino e estômago do peixe Curimbatá após 5 dias de incubação em meio Simmons Citrate

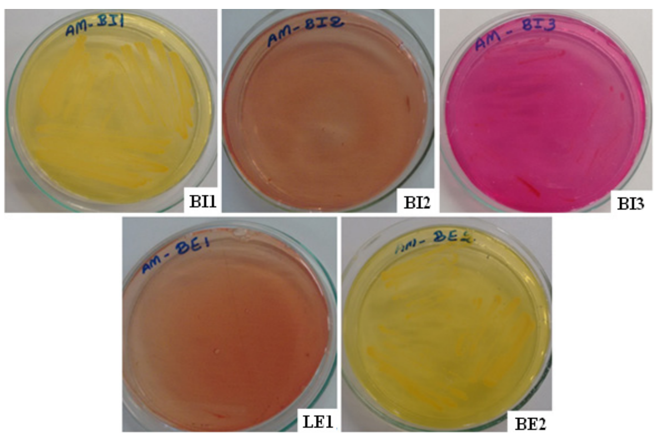


Figura 5. Linhagens dos microrganismos isolados do intestino e estômago do peixe Curimbatá após 5 dias de incubação em meio Ágar Manitol

A Tabela 2 apresenta a capacidade de crescimento dos microrganismos isolados nos meios sólidos seletivos estudados.

	BI1	BI2	BI3	LE1	BE2
Ágar Eosina/Lactose	-	-	-	+	-
Simmons Citrate	-	-	-	-	-
Agar Manitol	+	-	+	-	+

Tabela 2. Relação do crescimento das cepas isoladas nos meios seletivos, sendo (+) presença de colônias e (-) ausência de colônias.

Em relação à bactéria BI1, pode-se observar o seu crescimento em meio ágar manitol com mudança da coloração do meio para amarelo, esse resultado indica que a mesma pertence ao grupo de estafilococus com resultado positivo para o teste de coagulases (Figura 5). Os estafilococus podem ser divididos em dois grandes grupos, os que produzem as enzimas coagulases e os que não produzem, as enzimas coagulases são extracelulares e coagulam o sangue (Andrade et al., 2011). As mesmas observações podem ser feitas com a bactéria BE2, que apresentou crescimento equivalente neste meio, além disso, essas duas bactérias são Gram positivas e suas colônias possuem crescimento e coloração semelhantes em meio ágar nutriente, sendo bem provável que se tratam de bactérias da mesma espécie (Tabela 1). A bactéria BI3 também apresentou crescimento no meio Ágar Manitol, porém apresentou coloração rosa, mostrando pertencer ao grupo de estafilococus com resultado negativo para a enzima coagulase.

Segundo mostrado na Figura 3, a levedura LE1 apresentou um bom crescimento no meio ágar Eosina/Lactose, mostrando seu potencial em utilizar lactose como fonte de carbono. Sendo que leveduras fermentadoras da lactose possuem a capacidade de promover a fermentação alcoólica. Segundo Embaló (2014), as mesmas poderão pertencer aos gêneros de *Kluyveromyces, Debaryomyces, Yarrowia, Candida e Saccharomyces*.

Observa-se que a bactéria BI2 não teve um crescimento visível em nenhum dos meios seletivos estudados (Tabela 2). Da mesma forma, todas as colônias isoladas não apresentaram crescimento no meio Simmons Citrate. O ágar citrato de Simmons é utilizado na identificação de bactérias, principalmente as enterobactérias Gram-negativas, que o citrato utilizam como fonte de carbono. As bactérias da família *Enterobacteriaceae* são bastante conhecidas, alguns pertencem a microbiota normal dos intestinos de seres humanos e animais como a *Escherichia coli*, outras como habitantes do solo ou da água e outros podem estar implicados em vários processos patogênicos, incluindo, por exemplo, os gêneros *Salmonella*, *Proteus*, *Shigella* e *Yersinia* (ACUMEDIA, 2011).

O crescimento em meios seletivos assim como o teste de Gram possibilita conhecer algumas particularidades dos microrganismos como seu gênero, fontes de nutrientes e divisão em grandes grupos. Porém só por meio de técnicas de biologia molecular é possível identificar as espécies das colônias isoladas.

Ensaios da atividade enzimática dos microrganismos isolados

Após a incubação das cepas isoladas no meio sintético enriquecido com ácido tânico foi possível observar a formação de halos de coloração castanha nas colônias BI1, BI3 e LE1, como pode ser visto na Figura 6. A formação de halos de hidrólise pelos microrganimos isolados indica a degradação do ácido tânico e consequentemente a produção extracelular da enzima tanase.

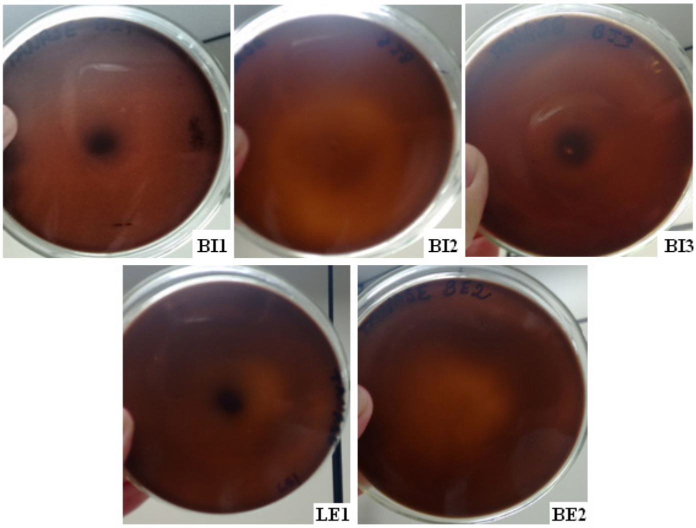


Figura 6. Linhagem de microrganismos isolados do intestino e estômago do peixe Curimbatá após 5 dias de incubação em meio sintético contendo 1% ácido tânico (m/m).

Já na incubação das cepas isoladas no meio sintético enriquecido com 1% de carboximetilcelulase foi possível observar a formação de halos de descoloração da solução vermelho congo 0,1% nas colônias BI1, BI2, BI3, LE1 e BE2, conforme observado na Figura 7. A formação de halos claros no meio com coloração vermelha indica a degradação da celulose, como única fonte de carbono.

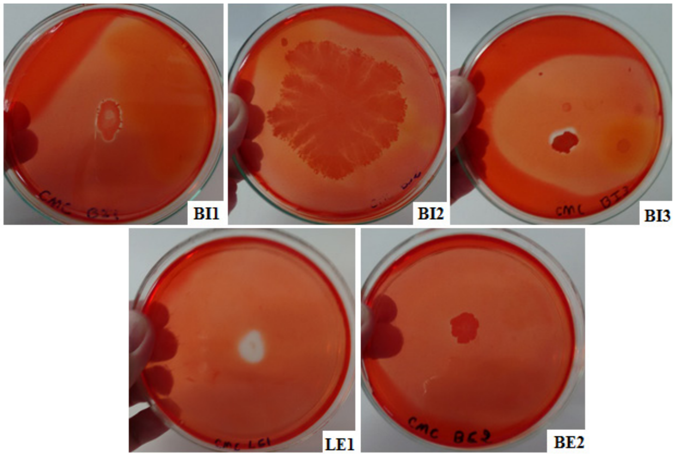


Figura 7. Linhagens dos microrganismos isolados do intestino e estômago do peixe Curimbatá após 5 dias de incubação em meio sintético contendo 1% CMC (m/m).

A formação de halos de coloração âmbar indica a produção da enzima, conforme mostrado na Figura 8 a única cepa que apresentou a formação do halo foi a LE1.

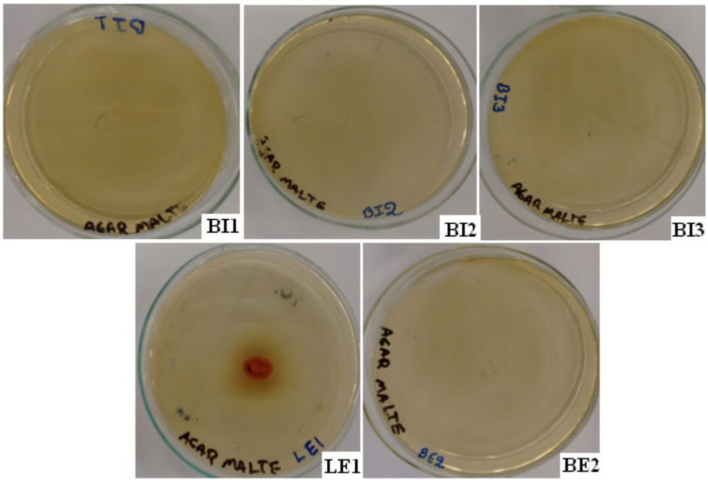


Figura 8. Linhagens dos microrganismos isolados do intestino e estômago do peixe Curimbatá após 5 dias de incubação em meio sintético contendo 0,5% de ácido gálico.

Os índices enzimáticos obtidos nos experimentos podem ser verificados na Tabela 3.

Colônia	Atividade tanase	Atividade celulase	Atividade fenoloxidase
BI1	1,5	3,72	-
BI2	-	1,5	-
BI3	1,25	6,25	-
LE1	-	8,5	-
BE2	1,6	6,25	2,8

Tabela 3. Índices enzimáticos encontrados para os microrganismos isoladas do intestino e estômago do peixe Curimbatá

Segundo Lealem&Gashe (1994) para considerar um microrganismo bom produtor de enzimas extracelulares o seu índice enzimático (IE) deve ser maior ou igual a 2. Nenhuma das cepas apresentou este índice para a atividade tanásica, no entanto a cepa que apresentou maior IE foi a levedura isolada do estômago do peixe (LE1) seguida da BI1, apresentando um potencial para produção desta enzima.

Todas as cepas isoladas apresentaram um bom rendimento para produção da enzima celulase, com destaque para os microrganismos BI3, LE1 e BE2, que foram capazes de

produzir um IE (Indice Enzimático) maior que 2,0 (Lealem&Gashe, 1994). Microrganismos degradores de celulose são considerados de grande interesse industrial, especialmente para as industrias de papel e celulose e etanol de segunda geração.

O índice enzimático apresentado pela levedura LE1 foi > 2,0, mostrando dessa forma o seu alto potencial para produção dessa enzima. A obtenção de microrganismos produtores de fenoloxidase é de interesse industrial, devido a sua capacidade de hidrolisar compostos fenólicos presentes em efluentes lignolíticos provenientes, principalmente, da indústria têxtil e de papel e celulose (Junior, 2010).

CONCLUSÕES

Os microrganismos estudados apresentaram características interessantes do ponto de vista biotecnológico. A levedura LE1 foi capaz de fermentar lactose em meio sólido, além de apresentar um potencial para a produção das enzimas tanase, celulase e fenoloxidase, nos ensaios enzimáticos qualitativos realizados. Da mesma forma, as bactérias BI1 (Gram positivo) e BI3 (Gram negativo) tiveram um resultado positivo na produção da enzima tanase. Por outro lado, todas as bactérias isoladas (BI1, BI2, BI3 e BE2) mostraram ser promissores na produção da enzima celulase. Sendo assim, conclui-se que, o isolamento de microrganismos a partir de resíduos provenientes da indústria pesqueira mostrou-se ser uma alternativa sustentável para a produção de enzimas de interesse biotecnológico, uma vez que após a utilização destes, os mesmos seriam descartados de forma correta, causando um menor dano ambiental. As enzimas estudadas neste trabalho possuem aplicações em diversos processos biotecnológicos como, por exemplo, degradação de materiais lignocelulósicos para a produção de biocombustíveis, tratamentos de efluentes, indústria alimentícia e síntese de compostos químicos de interesse industrial.

REFERÊNCIAS

ACUMEDIA. ÁGAR CITRATO SIMMONS – SIMMONS CITRATE AGAR (7156). PI 7156, Rev 5, 2011.

Andrade, A.P.C.; Borges, M.F.; Figueiredo, E.A.T.; Machado, T. F.; Porto, B.C. Perfil de *Staphylococcus*Coagulase Positiva e Negativa Contaminantes de Queijo de Coalho. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – EMBRAPA, 1ªed., 2011.

Bon, E.P.S; Ferrara, M.A; Corvo, M.L. Enzimas em biotecnologia produção, aplicações e mercado. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2008. p.506.

Bortolazzo, N.G. Isolamento e seleção de fungos celulolíticos para hidrólise enzimática do bagaço de cana de açúcar. Curso de Microbiologia Agrícola, Universidade de São Paulo- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011. Dissertação Mestrado.

Buller, N. B. Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual, CABI Publishing, 1ª ed. 2004.

Castro, R.M.C.; Vari, R.P. Prochilodontidae (Fannelcharacifomsboca) in: Reis, R.E., Kullander, S.O.; Ferraris, C. J. (editores.) Lista de verificação dos peixes de água doce da América do Sul e Central. Porto Alegre: EDIPUCRS, Brasil, 2011.

Conceição, D. M.; Angelis, D. A.; Bidoia, E. D.; Angelis, D. F. Fungos filamentosos isolados do rio Atibaia, SP e refinaria de petróleo biodegradadores de compostos fenólicos. Arq. Inst. Biol., 2005. v.72, n.1, p.99-106.

Embaló, D. P. C. Estudo da Microbiota Láctica em Leites Fermentados Artesanalmente Consumidos no Sul de Angola.Ciências Veterinárias. Universidade de Lisboa, 2014. p.153. Tese de Doutorado FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, 230 p., 2012.

Lealem, F.; Gashe, B. A. Amylase production by a Gram-positive bacterium isolated from fermenting tef*(eraglostistef)*. JournalofAppliedBacteriology, 1994. v. 77, n.1, p. 348-352.

Monteiro, V. N.; Silva, R. N. Aplicações industriais da biotecnologia enzimática. RevistaProcessosQuímicos, v.3, n.5, 2009.

Nadaf, N.; Ghosh, J. .Production, purification and characterization of tannase from *Rhodococcus*NCIM 2891.Curr. Res. J. Biol. Sci., 2011. v.3, n.3, p. 246-253.

Junior, N. L. Estudo de lacases fúngicas para degradação de compostos interferentes endócrinos. 2010. 138 f. Curso de Engenharia de Processos, Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2010. Dissertação Mestrado

Souza, A.L.T.; Fonseca, D.G.; Libório, R.A.; Tanaka, M.O. Influence of riparian vegetation and forest structure on the water quality of rural low-order streams in SE Brazil. Forest Ecology and Management, v. 298, 2013. p. 12-18.

CAPÍTULO 18

LEVANTAMENTO DA INCIDÊNCIA DE DOENÇAS NA CULTURA DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea*.) NA COMUNIDADE DA VILA DE PACAJÁ E GUAJARÁ NO MUNICIPIO DE CAMETÁ /PA

Data de aceite: 03/05/2021

André de Carvalho Gomes
UFPA/Cametá, PA

Brenda Suelli Alves Gomes
UFPA/Cametá, PA

David Pantoja Ribeiro
UFPA/Cametá, PA

Lucas Rodrigues Pereira
UFPA/Cametá, PA

Maxlene Rocha da Costa
UFPA/Cametá, PA

Meirevalda do Socorro Ferreira Redig
UFPA/Cametá, PA

Rafael Coelho Ribeiro
UFPA/Cametá, PA

Elessandra Laura Nogueira Lopes
UFPA/Cametá

Antônia Benedita da Silva Bronze
UFRA/Belém, PA

Omar Machado de Vasconcelos
UFPA/Cametá, PA

Marcos Augusto de Souza Gonçalves
UFPA/Cametá, PA

Harleson Sidney Almeida Monteiro
UFRA/Belém, PA

Viviandra Manuelle Monteiro de Castro Trindade
UFRA/Belém

Sinara de Nazaré Santana Brito
UFRA/Belém, PA

RESUMO: A cultura do Açaí vem sendo recentemente alvo constante de doenças, que, encontrando condições favoráveis ao seu desenvolvimento, são capazes de causar danos irreversíveis quando manifestadas nos primeiros meses do cultivo. Neste sentido, o trabalho teve como objetivo avaliar as doenças de maior incidência dentre três mais comuns no cultivo do açaí (BRS PARÁ) e o nativo, na vila de Pacajá e Guajará, município de Cametá/PA. As avaliações foram realizadas em campo, por meio de diagnose visual, em 04 áreas distintas sendo (A1 Terra firme cultivar BRS PARÁ, sistema de cultivo consorciado com banana e irrigado por micro aspersão, A2 área de terra firme sistema solteiro cultivar BRS PARÁ com sistema de irrigação por gotejamento, A3 Várzea açaizal nativo com manejo cultural (desbaste), A4 várzea açaizal nativo com manejo cultural (desbaste), onde foram selecionadas 20 amostras de plantas em cada área de forma aleatória para avaliação. Constatou-se que a doença de maior ocorrência foi antracnose (*Colletotrichum gloeosporoides)*, estando presente em todas as 04 áreas pesquisadas, atingindo o valor máximo de 37,5%, causando redução de área foliar e queda prematura de folhas.

PALAVRAS-CHAVE: Fitossanidade, Espécie

regional, Agricultura familiar, Sustentabilidade.

ABSTRACT: The culture of Açaí has recently been a constant target of diseases, which, finding favorable conditions for its development, are capable of causing irreversible damage when manifested in the first months of cultivation. In this sense, the work aimed to evaluate the diseases with the highest incidence among the three most common in the cultivation of açaí (BRS PARÁ) and the native, in the village of Pacajá and Guajará, municipality of Cametá / PA. The evaluations were carried out in the field, by means of visual diagnosis, in 04 different areas, being (A1 Terra seca cultivar BRS PARÁ, cultivation system intercropped with banana and irrigated by micro sprinkler, A2 area of terra forma single system cultivate BRS PARÁ with drip irrigation, A3 Várzea açaizal nativo with cultural management (thinning), A4 várzea açaizal nativo with cultural management (thinning), where 20 samples of plants were selected in each area at random for evaluation. greatest occurrence was anthracnose (Colletotrichum gloeosporoides), being present in all 04 areas surveyed, reaching a maximum value of 37.5%, causing reduction of leaf area and premature leaf fall.
KEYWORDS: Plant health, Regional species, Family farming, Sustainability.

1 | INTRODUÇÃO

O município de Cametá, localizado no Nordeste Paraense, destaca-se como um dos consideráveis produtores de açaí do Estado do Pará. A cultura do Açaí vem sendo recentemente alvo constante de doenças, que, encontrando condições favoráveis ao seu desenvolvimento, são capazes de causar danos irreversíveis quando manifestadas nos primeiros meses do cultivo. Neste sentido, o trabalho teve como objetivo avaliar as doenças de maior incidência dentre três mais comuns no cultivo do açaí (BRS PARÁ) e o nativo, na vila de Pacajá e Guajará, município de Cametá/PA. As avaliações foram realizadas em campo, por meio de diagnose visual, em 04 áreas distintas sendo (A1 Terra firme cultivar BRS PARÁ, sistema de cultivo consorciado com banana e irrigado por micro aspersão, A2 área de terra firme sistema solteiro cultivar BRS PARÁ com sistema de irrigação por gotejamento, A3 Várzea açaizal nativo com manejo cultural (desbaste), A4 várzea açaizal nativo com manejo cultural (desbaste), onde foram selecionadas 20 amostras de plantas em cada área de forma aleatória para avaliação. Constatou-se que a doença de maior ocorrência foi antracnose (*Colletotrichum gloeosporoides)*, estando presente em todas as 04 áreas pesquisadas, atingindo o valor máximo de 37,5%, causando redução de área foliar e queda prematura de folhas. Encontrou-se também, a presença da helmintosporiose como sendo a 2ª doença de mais ocorrência com percentual de (11,25%) nas áreas de pesquisa, e a fumagina foi diagnosticada apenas em áreas de várzea, porém com menor incidência apenas (10%). Com a pesquisa foi possível conhecer a principal doença de maior incidência nos açaizais tanto de terra firme como de área de várzea que foram avaliados, entender o nível de danos que estas causam, bem como a forma de controle adotada pelos agricultores.

2 | METODOLOGIA

A pesquisa foi realizado na zona rural, mas especificamente na comunidades da Vila de Pacajá e Guajará de Nazaré, localizada na BR 422, Transcametá-Limoeiro no município de Cametá com latitude: 02º14'40"S, Longitude: 49º29'45"W, altitude 150m. No período de 26 de abril de 2019, em quatro áreas sendo duas de terra firme e duas de áreas de várzeas, onde foram feitas coletas de amostras de açaizeiros que apresentavam características de sintomas de doenças e as mesmas foram comparadas com sintomas mencionadas através de literaturas consultadas como o manual de fitopatologia.

As avaliações foram realizadas em campo, por meio de diagnose visual, em quatro áreas distintas de cultivo de açaí: Área 1 (A1), Área 2 (A2), Área 3 (A3), área 4 (A4), com idade de seis meses, um ano, e mais de dez anos respectivamente, onde foram coletadas vintes amostras aleatórias de cada área. Em duas áreas de açaizais são cultivadas a cultivar BRS PARÁ e duas açaís nativos.

A pesquisa teve a finalidade de saber as incidências de doenças que geralmente são encontradas nos açaizais da região e que causam danos econômicos na cultura se não forem controlados, sendo as doenças a Antracnose (*Colletotrichum gloeosporoides*), Helmintosporiose *(Drechslera sp*). Fumagina (*Capnodium elaeophilum*).

O levantamento feito nos açaizais foi com auxílio de planilha onde foram anotadas os sinais e sintomas, feitos registros fotográficos e coletados a parte da planta atacada pela doença. Posteriormente os dados foram analisados e expostos em gráficos com auxílio de planilhas do Microsoft Excel e em seguida foram expostas em percentual para fazer a comparação das propriedades em relação as doenças de forma a facilitar o entendimento.

3 | RESULTADOS/DISCUSSÕES

A diagnose visual serviu para identificar as doenças no cultivo da cultura do açaí. Os resultados referentes à ocorrência das doenças nas áreas de açaí encontram-se na **Tabela 1**.

Cultura	Doenças
Açaí (Euterpe oleracea)	Antracnose (*Colletotrichum gloeosporoides*)
	Helmintosporiose (Drechslera sp).
	Fumagina *(Capnodium elaeophilum*)

Tabela 1. Doenças diagnosticadas em cultivo de Açaí (*Euterpe oleracea),* na Vila de Pacajá e Guajará no município de Cametá.

Fonte: Autores

Observou-se que todas as quatro áreas apresentaram a incidência de antracnose superior a 19% (Gráfico 1), sendo a área A1 com a maior incidência (70 %) e as áreas A2, A3 (30 %) e A4 (20 %) os menores valores de incidência da doença.

Os principais sintomas da Antracnose (*Colletotrichum gloeosporoides*), visualizados nos açaizais, são lesões com Pontuações necróticas de centro esbranquiçado (Figura 1A), estes sintomas são típicos da Antracnose conforme descrito por Feich et al. (1997); Feichtenberger (2001); Siviero et al. (2002).

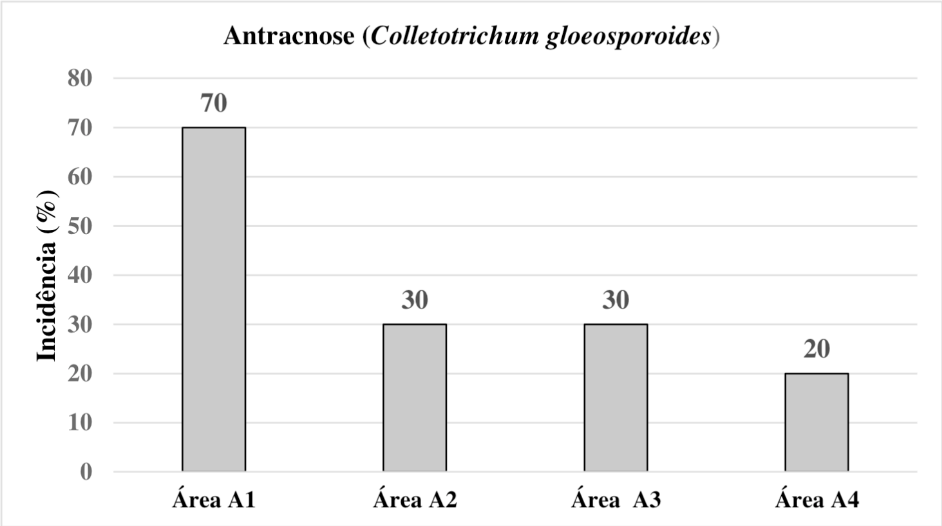


Gráfico 1. Percentual de incidência de Antracnose (*Colletotrichum gloeosporoides*), em quatro áreas de cultivo de açaí nas vilas de Pacajá e Guajará no município de Cametá-PA.

Na área A1 os sintomas da antracnose eram bastante evidentes, várias plantas se encontravam em estágio avançado de deterioração na área foliar, (Figura 1). Entretanto, nas áreas A2, A3 e A4 as plantas apresentavam sintomas de antracnose em estágio pouco avançado. Nestas áreas possivelmente foi observado resistência e/ou tolerância à infecção da parte foliar do Açaí à *Colletotrichum gloeosporoides*.

Observa-se em campo e também confirmar-se com os dados obtidos com os agricultores, que a *Colletotrichum gloeosporoides* está reduzindo a área foliar dos açaizeiros com idade de 6 meses a 1 ano, cultivado em terra firme. Este fato é justificado por manejo inadequado nas áreas de cultivo de açaí em terra firme da região. Alguns problemas foram levantados, sendo possíveis agravantes da antracnose na região: a utilização de instrumentos (enxada, foice e facão) contaminados nos tratos culturais; plantio de mudas já vinda de viveiros contaminadas; permanência de plantas doentes nas áreas.



Figura 1. Sintomas das doenças, lesões com Pontuações necróticas de centro esbranquiçado causados pela Antracnose (*Colletotrichum gloeosporoides*); na parte adaxial das folhas.

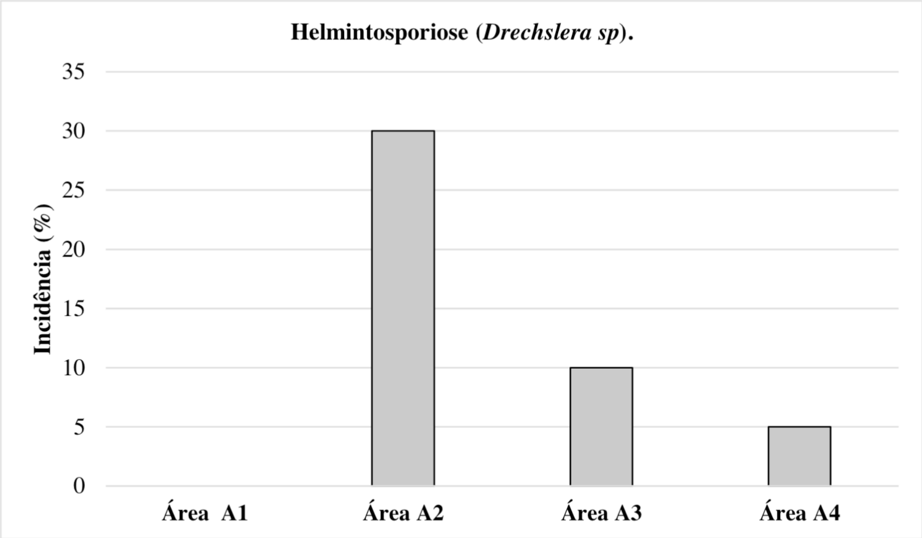


Gráfico 3. Percentual de incidência de Helmintosporiose (*Drechslera sp*), em três áreas de cultivo de açaí das quatro áreas de pesquisa nas Vilas de Pacajá e Guajará no município Cametá – PA.

A incidência da doença Helmintosporiose (*Drechslera sp)*, foi a segunda doença mais recorrentes nos açaizais de acordo com a diagnose visual, observou-se sua incidência tanto nas áreas de terra firme como na área de várzea sendo diagnostica partir do manual de fitopatologia através da sintomatologia presente nas folhas (Figura 3) como a mancha-foliar que provoca danos significativos em plantios jovens, que além de prejudicar o estado fitossanitário das plantas, nos casos mais severos, esse patógeno pode provocar a morte das plantas.



Figura 2. *Principais sintomas* da doença. (áreas A2, A3 e A4)**:** lesões necróticas de cor palha apresenta formatado elíptico com bordas bem definidas, nas folhas.

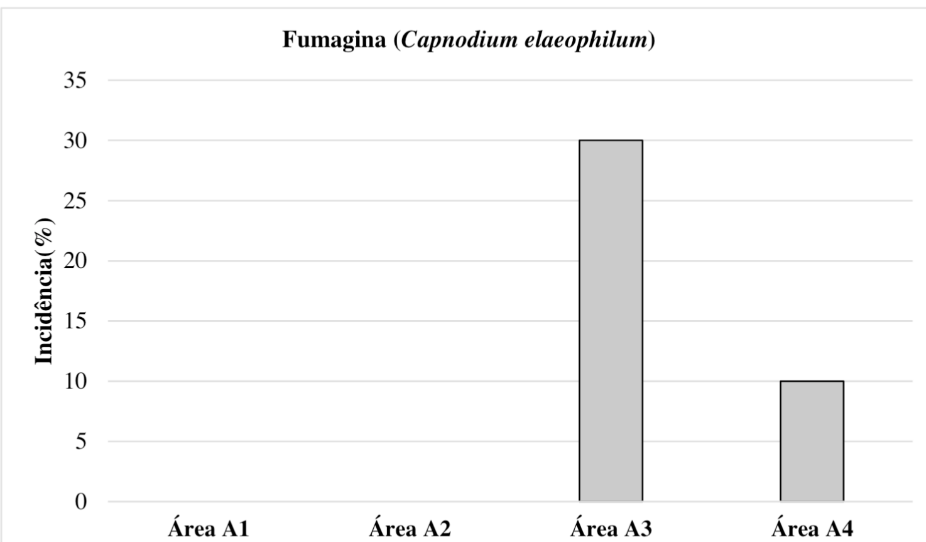


Gráfico 2. Percentual de incidência de Fumagina (*Capnodium elaeophilum*), em duas áreas das quatro áreas pesquisada de cultivo de Açaí nas vilas Pacajá e Gajará no município de Cametá – PA.

Entre as doenças diagnosticadas nas quatro áreas de cultivo de açaí analisadas, a fumagina foi a terceira mais importante, com incidências de (30%) na área A3 sendo o maior índice de incidência. Na área A4 foi apenas registrado o percentual de (10%) sendo considerado o menor índice desta doença. Nas áreas A1 e A2 não houveram registros da

doença fumagina, sendo, portanto, consideradas áreas livres de infestação de fumagina, porém não isentando das demais doenças como a antracnose e a helmintosporiose, entretanto esta baixa infestação pode ser atribuída ao período seco em que foi realizada as avaliações, todavia, os dados indicam para um elevado potencial de infestação na época chuvosa, onde o clima estará mais úmido e propício ao desenvolvimento da doença.

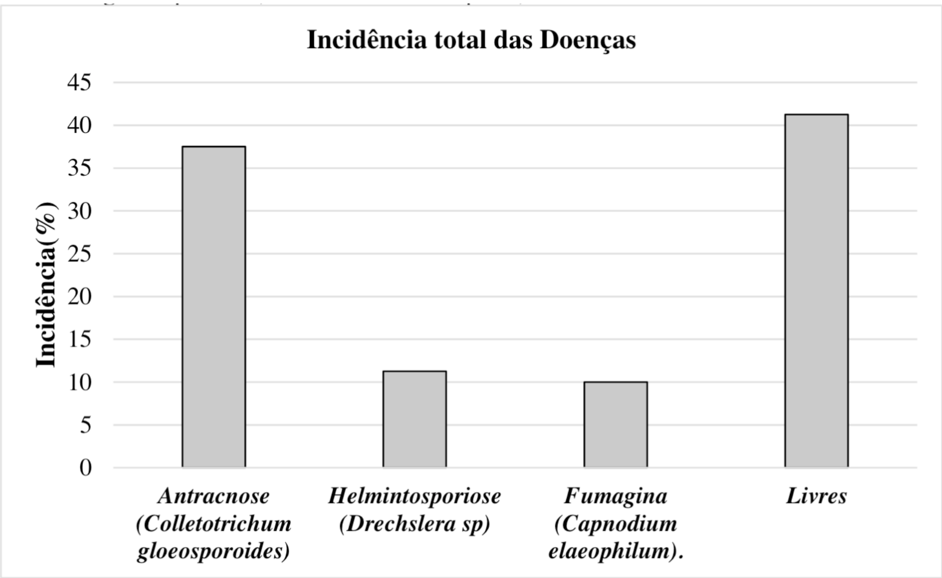
Mesmo em baixa infestação, a doença possui potencial para causar danos econômicos aos agricultores, pois se espalha na forma de uma crosta espessa e negra cobrindo total ou parcialmente por toda a área da folha e em alguns casos também os frutos (Figura 2), prejudicando a planta por reduzir à área fotossintética, a respiração, a transpiração e por tornar os frutos com aparência pouco aceitável no mercado. Geralmente, formigas, cochonilhas e pulgões estão associados à presença de fumagina nas plantas (LEMOS FILHO & PAIVA, 2006).

O controle da fumagina é realizado indiretamente, através do controle de insetos (cochonilhas, pulgões e moscas) que liberam uma secreção açucarada, que serve de alimento para a fumagina. A fumagina pode ser controlada mediante a aplicação de óleo mineral ou inseticida (dimetoato) nas folhas infestadas pelos insetos (FACHINELLO & NACHTIGAl, 2011).

A indicação de inseticida para a Cultura do Açaí ainda não há registro no MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**).** Portanto cabe pesquisa para o desenvolvimento e registro.



Figura 3. Principais sintomas da doença. (áreas A3 e A4): Crescimento fúngico superficial, castanho escuro ou preto, nas folhas e no caule.



4 I CONCLUSÃO

As áreas avaliadas apresentam significativas percentagem de incidência de doenças Antracnose (37,5%), Helmintosporiose (11,25%) e fumagina (10%) necessitando de manejo para eliminar as plantas contaminadas e evitar a propagação para as demais plantas sadias, pois na pesquisa realizada das 80 amostras coletadas a qual equivale ao total de porcentagem de (100%), foram diagnosticadas a contaminação de (58,75%) das amostras.

A Antracnose (*Colletotrichum gloeosporoide)* é a doença que mais causa prejuízos aos agricultores na fase inicial do cultivo, causando perda das áreas foliares e morte de plantas. Estando associada à utilização de mudas contaminadas em viveiro e a utilização de instrumentos cortantes (enxada, foice e facão) contaminados nas práticas culturais.

A incidência da Helmintosporiose (11, 25%) é preocupante nas áreas de cultivo, pelo fato de os agricultores desconhecerem sua existência como doença e não tomarem medidas de controle pois é a segunda doença de maiores incidências em três áreas, em quanto que a fumagina aparece nos gráficos após análise dos dados como a terceira doença com uma incidência bem menor de apenas (10%). A antracnose apresentou maior índice de incidência nas plantas de açaí, causando prejuízos, apesar de seu efeito não ter sido contabilizados pelos agricultores.

A cultura do Açaí ainda é uma cultura carentes de literatura pois é recente sua introdução na economia como cultura de potencial econômico o que ainda tornar um desafio para nós da região Amazônica desenvolver e elaborar pesquisa com embasamento teórico pois somente a Embrapa desenvolve pesquisas voltada a cultura do açaí.

REFERÊNCIAS

FARIAS, João Tomé, VASCONCELOS, Marcos Arthur, SILVA, Fabio Cunha, desenvolver a Amazônia e melhorar a vida das pessoas, cultivar, processamento, padronização e comercialização do açaí na Amazônia, Editora Flor Pará, ano 2010.

FACHINELLO, J. C. & NACHTIGAL, J. C. **Citros: Principais Doenças.** In: FACHINELLO, J. C.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. Fruticultura: Fundamentos e Práticas. Embrapa Clima Temperado, publicação online. Série Embrapa Clima Temperado. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/livro/fruticultura_fundamentos_pratica/11.3.htm>. Acesso: 10/06/2019.

https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/859446/1ct80açai.pdf.acessoem 09 de junho de 2019 às 16:00hs.

LEMOS FILHO, J.P.; PAIVA, É. A. S. The effects of sooty mold on photosynthesis and mesophyll structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* king., meliaceae). **Revista Bragantia**, Campinas, v.65, n.1, p.11-17, 2006.

CAPÍTULO 19

NANOPARTÍCULAS ESTERIFICADAS DE FÉCULA DE MANDIOCA

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 08/03/2021

Francy Magdalena Zambrano Sarmiento Cônsole
UFTM. Curso de Engenharia de Alimentos
http://lattes.cnpq.br/5103513129427876

Pamela Prodocimo Fonseca
UFTM. Curso de Engenharia de Alimentos
Uberaba-MG
http://lattes.cnpq.br/0625799925448310

Manuel Salvador Vicente Plata-Oviedo
UTFPR. Cursos de Enhenharia de Alimentos e Curso de Tecnologia de Alimentos
Campo Mourão -PR
http://lattes.cnpq.br/1631054158466820

Deusmaque Carneiro Ferreira
UFTM. Curso de Engenharia Ambiental
Uberaba- MG
http://lattes.cnpq.br/9980479864325695

RESUMO: Nanopartículas de amido quimicamente derivatizadas podem ser obtidas por processo de gelatinização com dimetilsulfóxido (DMSO) e tratamento com ácidos policarboxílicos e catalisador, no entanto o solvente DMSO é relativamente tóxico. Neste trabalho, o DMSO foi substituído por dioctilsulfossucionato de sódio com objetivo de se obter nanopartículas de amido de mandioca esterificadas com ácido tartárico. O amido gelatinizado com dioctilsulfossucionato de sódio e tratado com o ácido orgânico na presença de catalisador resultou em um material que apresentou banda de absorção FTIR em 1730cm^{-1}, indicando a ocorrencia de reação de esterificação e difractograma característico de estrutura amorfa, cujo tamanho de partícula foi inferior a 1000 nm. Usando dioctilsulfossucionato de sódio como solvente e catalisador dimetilamina piridina foi possível esterificar o amido de mandioca gelatinizado com ácido tartárico e, após precipitação com etanol nanopartículas de amido tartarato foram obtidas em estado amorfo.
PALAVRAS-CHAVE: Amido, ácido orgânico, dioctilsulfossucionato de sódio, nanopartículas.

ESTERIFIED CASSAVA STARCH NANOPARTICLES

ABSTRACT: Chemically derivatized starch nanoparticles can be obtained by gelatinization process with dimethylsulfoxide (DMSO) and treatment with polycarboxylic acids and catalyst, however the DMSO solvent is relatively toxic. In this work, DMSO was replaced by sodium dioctylsulfosucionate in order to obtain cassava starch nanoparticles esterified with tartaric acid. The starch gelatinized with sodium dioctylsulfosucionate and treated with organic acid in the presence of catalyst resulted in a material that presented an FTIR absorption band in 1730cm^{-1}, indicating the occurrence of an esterification reaction, and a diffractogram characteristic of amorphous, whose particle size was less than 1000 nm. The use of sodium dioctylsulfosucionate as a solvent and the dimethylamine pyridine as catalyst, it was possible to esterify cassava starch gelatinized

with tartaric acid and, after precipitation with ethanol, nanoparticles of tartrate starch were obtained in an amorphous state.
KEYWORDS: Starch, organic acid, sodium dioctyl sulfosuccinate, nanoparticles.

INTRODUÇÃO

Existe um crescente interesse na utilização do amido para aplicações no setor de embalagens. No entanto, esta promissora alternativa, apresenta limitações devido a fragilidade, o envelhecimento e a hidrofilicidade do amido. Estudos de modificação química do amido e da obtenção de compósitos pela adição de cargas em escala micro e nanométrica têm sido realizados para melhorar tais propriedades. Os “nanocompósitos” são formados pela “matriz” que se encontra em maior proporção e pelo “compósito” (CHIN *et al*., 2012). O amido apresenta três grupos hidroxila em cada molécula de glicose os quais possibilitam a incorporação de grupos funcionais através de modificação química. Nanopartículas de amido quimicamente modificadas contribuem com funções específicas e expandem o seu campo de aplicação. O objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar nanopartículas de fécula de mandioca modificada quimicamente através de esterificação utilizando como solvente o dioctilsulfossucionato de sódio e como catalisador a 2-dimetilamina piridina (DMAP). O dioctilsulfossucionato de sódio é permitido como estabilizante pela Agencia Nacional de Vigilância Sanitária através da RDC nº 5, de 15 de janeiro de 2007 (BRASIL, 2007).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados fécula de mandioca comercial do mercado local, Dioctilsulfossucionato de sódio (ALDRICH, 97%), 2-dimetilamina piridina (DMAP) (ALDRICH, 99%), alcool etílico absoluto (99,5%) (SYNTH) e ácido tartárico (SYNTH, P.A.). A 4,8 g de fécula de mandioca (0,03 mol de glicose) foram adicionados 130,4 ml de solvente, Dioctilsulfossucionato de sódio, 8g de ácido tartárico e 0,6ml de DMAP como catalisador. A fécula de mandioca foi adicionada do solvente até dissolução e na sequência, sob agitação magnética, do ácido tartárico . Esta mistura foi aquecida até 95°C e adicionada adicionada a DMAP. A reação foi realizada 95°C durante 6 horas. A mistura da reação foi lavada duas vezes, com total de 220 mL de álcool etílico absoluto. As nanopartículas obtidas foram separadas do solvente por centrifugação, em 4000 rpm por 30 minutos e secas a 60 °C durante 24 horas (CHIN *et al* 2012). Visando caracterizar os nanocristais foram realizadas analises de Espectroscopia de Infravermelho (FTIR) em aparelho SHIMADZU (Care 600), região de 4000 a 400cm^{1}; Difração de Raios-X (DRX), equipamento XRD-6000 Shimadzu e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), aparelho LEO 440i e detector de elétrons secundários SPUTTER COATER – POLARON; Microscopia de Força Atômica (AFM) em microscópio Shimadz (SPM 9700), modo dinâmico usando cantilevers, NT-MDT Co e software Gwyddion.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fécula nativa de mandioca não apresenta banda de absorção de grupo éster no espectro FTIR (ALMEIDA, 2016). O espectro FTIR da fécula modificado com ácido tartárico (Figura 1) apresentou um pequeno pico em 1730 cm^{-1} que corresponde a deformação axial C=O do grupo éster, confirmando a ocorrência da esterificação da fécula de mandioca. Segundo Huang et al (2007) e Iurckevicz et al (2017) no espectro de infravermelho do amido de mandioca nativo verifica-se as bandas em 3200 a 3600 cm^{-1}, referente à deformação axial de O-H, a banda, em 2935 cm-1, atribui-se ao estiramento C-H e em 1157 cm^{-1} à ligação glicosidica α-1,4 C-O-C. As bandas em 1460, 1248, 857 cm^{-1} estão relacionadas às vibrações do grupamento CH_2, e em 1644 cm^{-1} pode ser atribuída à água ligada ao amido. Bandas situadas em 1157, 1108, 1082 e 928 cm^{-1} estão relacionadas ao alongamento C–O e C–C.

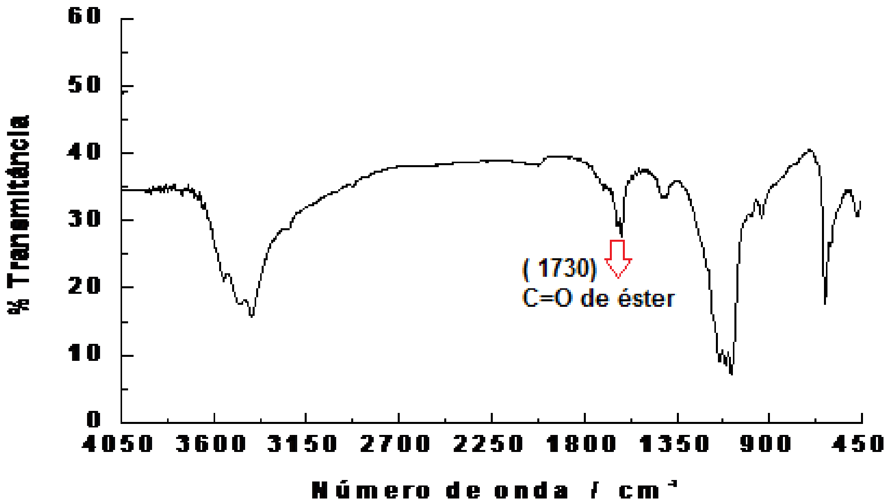


Figura 1 - Espectro de infravermelho das nanopartículas de tartarato de amido

A literarura informa que a fécula nativa de mandioca pode apresensentar padrões de cristalinidade tipos A (Zobel 1998) com picos (2q) em 15,3°; 17,1°; 18,2°; and 23,5° ou C_A que se diferencia do tipo A por apresentar um pequeno pico em 5,6° (ALMEIDA, 2016). No difractograma da fécula modificada (Figura 2) não forma os picos caracteristícos dos padrões tipo A ou C_A, a curva ficou achatada, indicando a característica amorfa do material obtido. Porém, se observaram dois pequenos picos, um em 17º e outro em 25º (2q), sendo que o primeiro corresponde a amido retrogradado (XIAO et al, 2012).

As nano partículas de amido quando obtidas por processo de hidrólise ácida são de carater cristalino e apresentam difractograma similar ao do amido nativo (Le Corre;

Angellier-Coussy, 2014) enquanto as obtidas através de processo de gelatinização/modificação química seguido de precipitação (nanoprecipitação) com solvente a estrutura cristalina original é destruída obtendo-se material amorfo (QI; LOU; LU, 2019). Nas micrografias MEV foi observado material agregado em forma de "placa" (Figura 3a, 50x), a ampliação do mesmo campo mostra espécie de alguns pequenos grânulos contidos numa "pasta" (Figura 3b, 10000x) similar ao relatado por Qi; Lou e Lu (2019) na obtenção de nanopartículas pelo processo de gelatinização-precipitação. A microfotografia de força atómica (Figura 4, 1 μm x 1μm x 60 nm) mostra agregados de partículas menores 1000 nm, provavelmente entre 400 a 600 nm, comprovando a obtenção das nanopartículas.

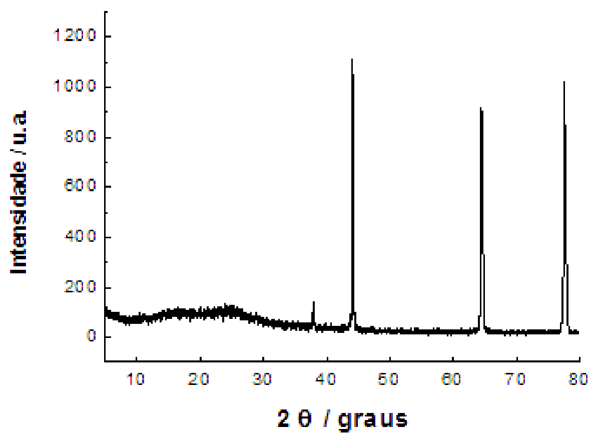
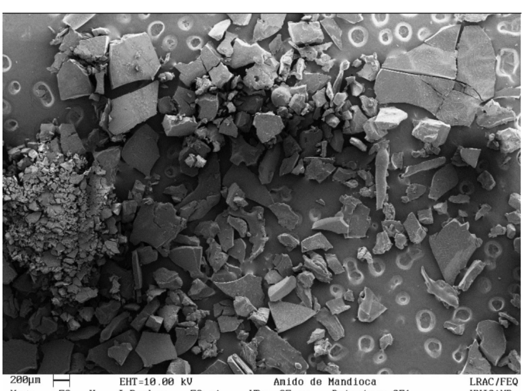
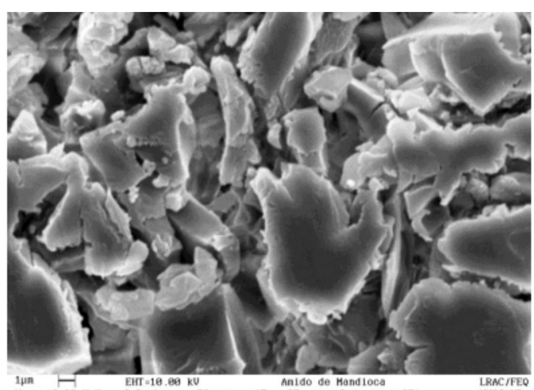


Figura 2 - Padrão de difração (difratograma) das nanopartículas de tartarato de amido



a) Micrografia com 50x de ampliação.



b) Micrografia com 10.000 x de ampliação.

Figura 3 - Microfotografias das nanopartículas de tartarato de amido

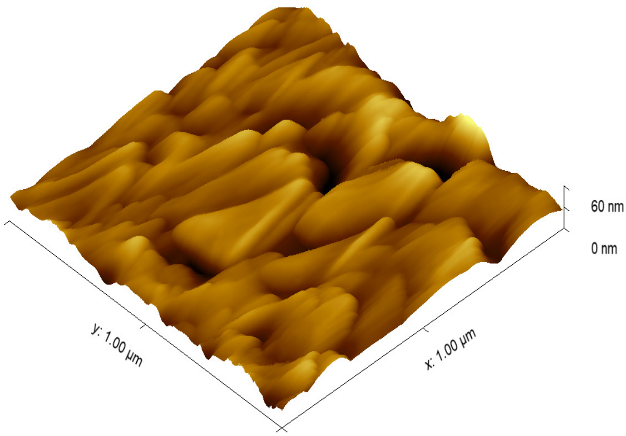


Figura 4 – Imagem 3D obtida por AFM das nanopartículas de tartarato de amido (1.0 x 1.0 μm)

CONCLUSÃO

Usando como solvente dioctilsulfossucionato de sódio e catalisador dimetilamina piridina foi possivel esterificar o amido de mandioca gelatinizado com ácido tartárico e após precipitação com etanol foram obtidas nanopartículas de amido tartarato em estado amorfo.

FONTE FINANCIADORA

BIC/FAPEMIG

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Jacqueline de Florio. **Síntese e caracterização de dextrinas esterificadas com ácido málico a partir dos amidos de mandioca e milho.** 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2016

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2015). Aprovação sobre o Regulamento Técnico sobre a atribuição de aditivos e seus limites máximos para a Categoria de Alimentos 16.2: Bebidas Não Alcoolicas Subcategoria 16.2.2: Bebidas Alcoolicas Gaseificadas e Não Gaseificadas. Resolução RDC n° 5, de 15 de janeiro de 2017. Brasília: Ministério da saúde; 2017. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-5-de-15-de-janeiro-de-2007.pdf/view. Acesso em: 7 mar. 2021.

CHIN, S.F.; PANG, S.C.; LIM, L.S. Synthesis and characterization of novel water soluble starch tartarate nanoparticles. **International Scholarly Research Network.** ISRN Material Science. v. 2012, a. ID 723666666686, p.5, 2012.

HUANG, L.; SCHOLS, H.A.; VAN SOEST, J.J.G. JIN, Z.; SULMANN, E.; VORAGEN, A.G.J.; **Food Chemistry**. 2007, *101*, 1338.

XIAO, H; LIN, Q; LIU, G-Q; Yu, F.Evaluation of Black Tea Polyphenol Extract Against the Retrogradation of Starches from Various Plant Sources. **Molecules**, v. 17, p. 8147-8158, 2012.

IURCKEVICZ, G.; MARQUES, T.; LIMA, V. Química e Quimiométrica de Matrizes de Amido Modificado por Trimetafosfato de Sódio. **Revista Virtual de Quimica**., 2017, v.9, n. 4, p. 1462-1480. 2017. Disponível em: http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v9n4a05.pdf. Acesso em: 3 mar. 2021.

LE CORRE, D.; ANGELLIER-COUSSY, H. Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: a review. **Reactive and Functional Polymers**, n. 85, p. 97-120, 2014.

QI, L.; LUO, Z.; LU, X.. Modulation of starch nanoparticles surface characteristics for facile construction of recycling Pickering interfacial enzymatic catalysis. **Green Chemistry**. doi:10.1039/c9gc00779b, 2019.

ZOBEL, H.F. Molecules to granules: a comprehensive starch review. **Starch/Starke**, v. 40, n. 2, p. 44-50, 1988.

CAPÍTULO 20

PATULINA E OS PROBLEMAS NA INDÚSTRIA DA MAÇÃ: UMA VISÃO GERAL

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 08/02/2021

Ingrid Duarte dos Santos
Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciência Rurais
Santa Maria - RS
http://lattes.cnpq.br/4276437050292694

Rosana Colussi
Universidade Federal de Pelotas, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Pelotas - RS
http://lattes.cnpq.br/33408257563837

Roger Wagner
Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciência Rurais
Santa Maria - RS
http://lattes.cnpq.br/4780821244553957

Ionara Regina Pizzutti
Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Química, Centro de Ciência Naturais e Exatas
Santa Maria - RS
http://lattes.cnpq.br/3883506164936996

Rosselei Caiel da Silva
Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Química, Centro de Ciência Naturais e Exatas
Santa Maria - RS
http://lattes.cnpq.br/2187197138622302

Bruna Klein
Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciência Rurais
Santa Maria - RS
http://lattes.cnpq.br/3487749692550788

Stephanie Reis Ribeiro
Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciência Rurais
Santa Maria - RS
http://lattes.cnpq.br/3715538361249050

Marlos Eduardo Zorzella Fontana
Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Química, Centro de Ciência Naturais e Exatas
Santa Maria - RS
http://lattes.cnpq.br/2785024410338643

RESUMO: A maçã é um alimento altamente suscetível à contaminação fúngica, e é no período pós-colheita que ocorrem as doenças mais graves que levam à deterioração dos frutos. Essas doenças são responsáveis por grandes perdas econômicas na produção desta fruta. Esta revisão objetivou apresentar uma visão geral sobre as principais doenças fúngicas da maçã e a importância da micotoxina patulina, além de entender sua evolução durante o armazenamento pós-colheita e avaliar o risco associado à contaminação por patulina nos subprodutos da maçã. Embora a prática de processar frutas mofadas seja evitada em vários países, frutas deterioradas ainda podem ser

incorporadas à linha de processo e com isso, a presença de fungos toxigênicos e micotoxinas, principalmente, a patulina em maçãs e seus subprodutos representam um potencial risco à saúde, principalmente para crianças, uma vez que esta fruta é amplamente consumida por esta classe de consumidores. *Penicillium expansum* é o principal patógeno da maçã com capacidade de sintetizar a micotoxina patulina, e a mesma têm sido detectada em maçãs e vários alimentos à base da fruta. O controle da contaminação por patulina ainda representa um desafio para a indústria da maçã, uma vez que apesar de algumas técnicas comuns de processamento ter a capacidade de reduzir a concentração desta micotoxina, estas não são suficientes para garantir a segurança alimentar. Com isso, é necessário investir em práticas de controle que impeçam a doença fúngica no armazenamento pós colheita, e além disso, estudos envolvendo o monitoramento da patulina em maçãs e seus subprodutos devem ser contínuos pois é um assunto de extrema importância para a saúde pública, visando, portanto, à obtenção de produtos de qualidade.
PALAVRAS-CHAVE: Fungos toxigênicos, micotoxinas, *Penicillium* sp., pós-colheita, qualidade de alimentos.

PATULIN AND PROBLEMS IN THE APPLE INDUSTRY: AN OVERVIEW

ABSTRACT: Apple is a food highly susceptible to fungal contamination, and it is in the post-harvest period that the most serious diseases with fruit deterioration incidence. These diseases are responsible for great economic losses in the production of this fruit. This review aimed to provide an overview of the main fungal diseases of the apple and importance of mycotoxin patulin. In addition to understanding its evolution during post-harvest storage and assessing the risk associated with patulin contamination in apple by-products. Although the practice of processing moldy fruits is avoided in several countries, deteriorated fruits can still be incorporated into the process line and with this, the presence of toxigenic fungi and mycotoxins, especially patulin in apples and their by-products represent a potential health risk, mainly for children, as this fruit is widely used in this class of consumers. *Penicillium expansum* is the main pathogen in apples with the ability to synthesize patulin mycotoxin and it has been detected in apples and several foods based in apples. The control of patulin contamination still represents a challenge for the apple industry, since although some common processing techniques have the ability to reduce the concentration of this mycotoxin, these are not sufficient to guarantee food safety. As a result, it is necessary to invest in control practices that prevent fungal disease in post-harvest storage, and furthermore, studies involving patulin survey in apples and their by-products should be continuous as it is an extremely important issue for public health, therefore, aiming at obtaining quality products.
KEYWORDS: Toxigenic fungi, mycotoxins, *Penicillium* sp., postharvest, food quality food.

1 I INTRODUÇÃO

A maçã é uma cultura que tem apresentado importância crescente no Brasil, tanto no mercado interno como no mercado internacional. Fatores como a produção de variedades modernas, regiões com condições climáticas favoráveis, bem como preocupações com produtividade e conservação, transformaram o país em um grande produtor mundial

(BRACKMANN et al., 2009; BOTH et al., 2014; ANESE et al., 2020). De acordo com dados da FAOSTAT (2019), o Brasil contou com aproximadamente 33 mil hectares destinadas a essa cultura em 2018, com uma produção estimada em 1,2 milhão de toneladas. Dentro desta perspectiva, a produção nacional está distribuída principalmente no Rio Grande do Sul (46,0%) e Santa Catarina (50,9%) que respondem por 96,9% da produção brasileira (MAPA, 2019), em que 91% dos pomares são formados com as cultivares "Gala" (46%) e "Fuji" (45%) (IGLESIAS et al., 2012).

Como acontece com a maioria das produções agrícolas, existe uma fração da safra de maçã que acaba não sendo comercializada *in natura* no mercado. Essa fração corresponde a frutos que não atendem aos padrões de qualidade para a comercialização direta e, portanto, são destinados à elaboração, principalmente de sucos, que são exportados na forma de concentrado da fruta (PATRIARCA, 2019). Frutos destinados à comercialização imediata e à exportação são aqueles que apresentam melhor qualidade em termos de aparência, como coloração uniforme, formato característico, ausência de podridões e danos mecânicos (CRUZ et al., 2018; BRUZONE, 2019). Embora a prática de processar frutas mofadas seja evitada em vários países, frutas danificadas ainda podem ser incorporadas à linha de processo, especialmente quando a deterioração dos fungos é incipiente ou não é detectável pelo controle de qualidade padrão realizado pela indústria de maçã. A porcentagem de frutas destinadas à industrialização varia entre os países, além de depender de vários fatores, como demanda interna por frutas frescas, comércio de exportação, preferências do consumidor por diferentes cultivares, entre outros (PATRIARCA, 2019).

A maçã é um alimento altamente suscetível à contaminação fúngica, e é no período pós-colheita que ocorrem as doenças mais graves, decorrentes de fungos, que levam à sua deterioração. Essas doenças são responsáveis por perdas econômicas significativas na produção de maçãs, estimadas em uma faixa de 30 a 40% nos países em desenvolvimento, chegando a 60% em casos mais extremos (KHOL et al., 2018; NAETS et al., 2018). Além disso, outro aspecto negativo de grande importância da contaminação fúngica é o risco da presença de micotoxinas nos frutos. Quando espécies micotoxigênicas dos gêneros *Penicillium*, *Alternaria* ou *Fusarium*, que são os principais agentes causadores da deterioração, infectam os frutos, o risco potencial de contaminação com micotoxinas é alto, podendo se intensificar se estas espécies forem capazes de crescer durante o armazenamento sob refrigeração (WELKE et al., 2009). A incidência de podridão durante o armazenamento é a principal causa de perdas de maçã no Brasil, o que pode afetar diretamente na qualidade do fruto (BOTH et al., 2014).

As indústrias de concentrado de maçã geralmente processam durante todo o ano, o que exige manter a fruta em câmaras refrigeradas por vários meses. No caso de maçãs, o armazenamento a frio associado a atmosfera controlada pode se estender de 9 a 12 meses, dependendo da variedade da maçã e do destino da fruta. Vários patógenos que colonizam o

interior da maçã são capazes de sintetizar micotoxinas durante o armazenamento. Embora algumas etapas de processamento da fruta tenham demonstrado reduzir a concentração de micotoxinas, quando estas estão altamente contaminadas, níveis detectáveis desses contaminantes podem ser encontrados nos produtos finais (OTEIZA et al., 2017).

A patulina é a principal micotoxina que afeta a maçã e seus subprodutos, e seu principal produtor é o *P. expansum*. Esta por sua vez, é um composto crônico e altamente tóxico, cuja genotoxicidade, teratogenicidade e imunotoxicidade foram comprovadas em estudos com animais (PUEL et., 2010). A presença de fungos toxigênicos e patulina em maçãs e seus produtos constitui um potencial risco à saúde, principalmente para crianças, pois esta fruta é amplamente consumida por esta faixa etária de consumidores.

Tendo em vista que a fração de maçãs de menor qualidade é conduzida a processos industriais para agregação de valor econômico, é de suma importância que se tenha conhecimento sobre a qualidade da matéria-prima para fins de processamento. Sabe-se que fungos toxigênicos e micotoxinas são compreendidos dentro do grupo dos contaminantes mais importantes em alimentos, devido ao seu impacto negativo sobre a saúde pública, segurança alimentar e economia de muitos países. Portanto, esta revisão tem como objetivo apresentar uma visão geral sobre as principais doenças fúngicas da maçã e a importância da micotoxina patulina, além de compreender sua evolução durante o armazenamento pós-colheita e avaliar o risco associado à contaminação por patulina dos produtos da maçã.

2 | DOENÇAS FÚNGICAS DA MAÇÃ

As frutas, de um modo geral, apresentam a característica de serem alimentos de fácil deterioração, devido, principalmente, à quantidade de água livre, o que afeta diretamente a conservação e o uso prolongado da fruta. No período pós-colheita e durante o transporte e armazenamento desses produtos agrícolas, a presença de fungos pode ser influenciada por muitos fatores, dentre eles, nível de umidade, temperatura, aeração e tempo de armazenamento (DI MASI et al., 2011).

A maioria das frutas apresentam alta acidez, com pH variando entre 2,5 e 5,0. Esta faixa de pH é considerada um dos mais importantes fatores na determinação dos tipos de micro-organismos capazes de causar deterioração nesta classe de alimentos. Os fungos capazes de tolerar essa faixa de pH, são os principais micro-organismos deteriorantes de frutas e de produtos derivados de frutas. As frutas tornam-se mais susceptíveis à invasão de fungos durante o processo de maturação, pois o pH dos tecidos vegetais aumenta, a casca torna-se mais macia, carboidratos solúveis são formados e as barreiras de defesa enfraquecem (STINSON et al., 1981).

Atualmente, há vários patógenos fúngicos identificados como agentes causadores de doenças da maçã. Segundo Shen et al. (2018) diversos patógenos são relatados em

todo o mundo e muitos fatores afetam a composição da microbiota da maçã, tais como as diferenças geográficas de cada país, o que inclui as condições climáticas, práticas agrícolas, cultivares e ambiente pós-colheita. A maioria dos fungos inicia a colonização quando há ferimentos ou danos físicos na epiderme do fruto, causados por insetos ou aves no campo ou por manipulação inadequada durante a pós-colheita.

Penicillium expansum, o agente causador da podridão azul ou mofo azul, é um dos fungos mais frequentemente relatados. Outros comuns são *Botrytis cinérea* (podridão cinzenta), *Monilinia fructigena* e outras *Monilinia* spp. (podridão parda), *Colletotrichum* spp. (podridão amarga), *Mucor* spp. e *Rhizopus* spp. Esses patógenos oportunistas podem infectar o fruto tanto na fase de pré-colheita quanto na pós-colheita (WENNEKER et al., 2016; KOHL et al., 2018). Embora alguns desses fungos também possam causar danos no interior da fruta, eles são mais frequentemente associados a lesões externas.

Uma categoria diferente de patógenos da maçã inclui espécies pertencentes a gêneros como *Alternaria*, *Cladosporium* e *Fusarium* (TOURNAS et al., 2009; RAJ et al., 2013). Esses fungos se desenvolvem no interior da fruta causando podridão no núcleo mofado. Os patógenos podem infectar os frutos na pré-colheita, quando esporos de fungos conseguem ter acesso a flores senescentes e permanecem em estado inativo sem causar sintomas até a colheita ou mesmo após a colheita. De acordo com Gao et al. (2013) a infecção pode ocorrer em qualquer estágio do desenvolvimento do fruto.

O fato de algumas espécies deteriorantes terem a capacidade de crescer relativamente rápido em temperaturas de refrigeração, explica que a incidência e a severidade da doença aumentam com o período de armazenamento em câmaras frias, tanto em atmosfera refrigerada quanto controlada (DI MAZI et al., 2011). A população de fungos estabelecida na superfície da maçã, com capacidade de colonizar o fruto, seja por mecanismos de infecção ou como patógenos oportunistas, através de ferimentos na epiderme, depende dos estágios de desenvolvimento do fruto, tipo de cultivo (orgânico versus convencional), aplicação de fungicidas ou métodos alternativos de preservação, desinfecção da superfície após a colheita, entre outros fatores (KHOL et al., 2018; NAETS et al., 2018; SHEN et al., 2018). Essas populações fúngicas sofrem mudanças significativas desde a colheita até o final do período pós-colheita. Segundo Patriarca, (2019) um fator chave na evolução dessa população é a duração do período de armazenamento e suas características ambientais. O armazenamento pós-colheita pode se estender de alguns meses a cerca de 12 meses, dependendo da variedade de maçãs e do destino pretendido. As temperaturas nas quais os frutos são mantidos, geralmente na faixa de -2 a 5 °C, selecionam fungos psicrotróficos sobre aqueles que não conseguem se adaptar para sobreviver ou crescer em baixas temperaturas.

3 | PATULINA

A patulina vem sendo empregada como indicador da qualidade nos frutos e produtos de maçã (MOSS, 2008). Quimicamente, a patulina é uma lactona de nome químico (4-hidroxi-4H-furo[3,2-c]pirano-2 (6H)-ona (Figura 1). É uma micotoxina da classe hidroxifuropiranona, chamada clavicina, claviformina ou expansina, apresenta fórmula empírica $C_7H_6O_4$ e seu peso molecular é de 154,12 Da. Apresenta estabilidade em ácidos diluídos e é resistente à temperatura de 125 ºC na faixa de pH entre 3,5 e 5,5, ocorrendo o inverso em soluções alcalinas e compostos sulfurosos, representados por metabissulfito e radicais sulfidrilas, quando diminui a sua atividade biológica (SCUSSEL, 1998).

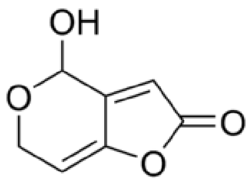


Figura 1. Estrutura química da molécula da patulina.

Esta micotoxina é produzida por mais de 60 espécies de fungos e cerca de 30 gêneros, dentre eles *Penicillium, Aspergillus e Byssochlamys*, sendo o *P. expansum* o principal produtor (GOKMEN & ACAR, 1998; IOI et al., 2017). Esta espécie é um fungo psicotrófico e já foi encontrado em maçãs, cerejas, pêssegos, nectarinas, peras, damascos e uvas. É considerado responsável por 70 a 80% da deterioração de frutas armazenadas, em especial de maçãs (CALDAS et al., 2008). Como consequência, maçãs e seus produtos derivados são a principal fonte de patulina na dieta humana.

A atividade de água exerce forte influência sobre o desenvolvimento dos micro-organismos que causam degradação do alimento. Em geral, o valor ótimo de atividade de água para os fungos crescerem é diferente do valor ótimo da atividade de água em que o nível máximo de formação de micotoxinas é observado. Segundo Magan e Olsen (2004) a faixa de temperatura para o crescimento e produção de patulina por *P. expansum* é 0 – 24 ºC e a atividade de água máxima é de 0,99.

Estudos mostram que o armazenamento das frutas a baixas temperaturas não é suficiente para prevenir a formação de micotoxinas, pois o *P. expansum* é capaz de crescer e produzir patulina em temperaturas menores que 5 °C (PATRIARCA, 2019). Relaciona-se o aparecimento do *P. expansum* nas frutas com a diminuição da temperatura e presença das fontes de carbono como a frutose, glicose, sacarose e ácido málico (CALDAS et al., 2008). Com isso, autores concluem que o armazenamento de frutas à baixa temperatura não é suficiente nem para inibir o crescimento deste fungo, tampouco para evitar produção da toxina (WELKE et al., 2009).

Normalmente a patulina é encontrada em altas concentrações na parte da fruta onde há presença de esporos (93 a 95% de toda toxina) e devido a sua hidrossolubilidade se difunde para outras partes sadias do fruto (BAERT et al., 2006). Portanto, a patulina pode ser detectada em frutas visivelmente sadias. Doores (1983) afirma que embora a patulina possa estar presente em maçãs aparentemente sadias destinadas ao consumo direto, ela é normalmente encontrada em níveis mais elevados em frutos de baixa qualidade destinados à transformação em suco, sidra, purês e geleias. Por esta razão, recomenda-se a retirada da podridão e do tecido sadio próximo, para prevenção da contaminação pela patulina (EMBRAPA, 2014).

Desde 1941, a patulina tem sido objeto de estudo, primeiramente por sua ação como antibiótico e depois por suas propriedades tóxicas e carcinogênicas. Segundo estudos conduzidos por Ioi et al. (2017) e Zbyňovská et al. (2016) a patulina é um composto crônico e altamente tóxico, cuja genotoxicidade, teratogenicidade e imunotoxicidade foram comprovadas em animais. Sintomas agudos, como distúrbios gastrointestinais, náuseas e vômitos, foram observados em humanos. Embora nenhuma informação esteja disponível sobre os efeitos da exposição a longo prazo em humanos, sua presença em alimentos é limitada em muitos países como medida preventiva (CUNHA et al., 2014). Sua atividade carcinogênica é atribuída à insaturação α, β, junto com uma dupla ligação conjugada externa, unida na posição 4 do anel lactona (MOAKE et al., 2005). A Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (*International Agency for Research on Câncer* – IARC) classifica a patulina como carcinógeno do grupo 3 - confirmado carcinógeno animal com relevância desconhecida para seres humanos (IARC, 2020). A dose de letalidade – DL50 para camundongos varia de 5 a 30 mg kg^{-1} de peso corpóreo (BOONZAAIJER et al., 2005).

4 | LEGISLAÇÃO E AS IMPLICAÇÕES DA CONTAMINAÇÃO POR PATULINA EM INDÚSTRIAS DE PROCESSAMENTO DE MAÇÃS

A contaminação de derivados de frutas com micotoxinas geralmente resulta do uso de frutas de baixa qualidade durante o processamento (SYDENHAM et al, 1997) e com isso, o risco de fungos micotoxigênicos é de extrema relevância para as indústrias de processamento de maçãs. *A* infecção por *P. expansum* em maçãs destinadas para a industrialização é mantida sob vigilância há muitos anos por meio de medidas de controle de qualidade, geralmente por inspeção visual dos frutos incorporados ao processo (ZHONG et al., 2018). Além disso, devido aos riscos para saúde, organizações nacionais e internacionais estabeleceram limites máximos de micotoxinas em alimentos, a fim de garantir a segurança dos mesmos (GONZÁLEZ et al., 2010). A legislação sobre micotoxinas varia de acordo com o país, sendo que o nível aceitável é diferente para cada tipo de alimento (Tabela 1).

No Brasil, a Resolução n° 7, de 18 de fevereiro de 2011, cita os limites máximos toleráveis de micotoxinas estabelecidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância

Sanitária). Segundo esta RDC, o limite máximo tolerável para patulina em suco de maçã e polpa de maçã é de 50 µg L^{-1} (ANVISA, 2011). Países da Europa e Estados Unidos também estabelecem níveis máximos para conteúdo de patulina em derivados de maçã. A Comissão Europeia estabeleceu limites mais baixos para produtos sólidos de maçã, incluindo compota e purê (25 µg kg^{-1}), e regulamentos ainda mais rigorosos são aplicados para alimentos para bebês e crianças (10 µg kg^{-1}) (EUROPEAN COMMUNITY, 2006).

Os níveis máximos tolerados das micotoxinas que vem sendo impostos pelas legislações nacionais e internacionais estimula países exportadores, como o Brasil, a pesquisarem a qualidade micotoxicológica dos seus produtos, a fim de se tornarem competitivos no mercado internacional e de fornecerem alimentos seguros. Além disso, aumentam a necessidade do desenvolvimento de novos métodos de quantificação e otimização daqueles já existentes, uma vez que resultados não confiáveis de um determinado laboratório podem acarretar problemas graves de segurança do alimento, e, como consequência, impedimento de exportações (JESTOI, 2008).

Na Tabela 1, encontram-se os valores dos limites máximos tolerados para patulina nos diferentes produtos derivados de maçã segundo o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão Europeia, regulamento este que, fixa os teores máximos de certas micotoxinas presentes em determinados gêneros alimentícios, juntamente com os limites fixados pela ANVISA e FDA.

Órgão	Produtos	LMT (µg kg^{-1} ou µg L^{-1})
União Europeia	Sucos de frutas e néctar de frutas, em particular suco de maçã e ingredientes para outras bebidas	50
	Concentrados de sucos de frutas após reconstituídos conforme instrução do fabricante	50
	Bebidas alcoólicas, sidra e outros drinques fermentados derivados de maçã ou contendo suco de maçã	50
	Produtos sólidos de maçã, incluindo compotas, purê de maçã para consumo direto	25
	Suco de maçã e produtos sólidos de maçã incluindo compotas e purê de maçã, para crianças	10
	Outros - alimentos para bebês (*baby food*)	10
ANVISA	Suco de maçã	50
	Polpa de maçã	50
FDA	Suco de maçã e derivados	50

Tabela 1. Limites máximos tolerados (LMTs) para patulina em produtos de maçãs estabelecidos pela União Europeia, ANVISA e FDA.

De acordo com Ioi et al. (2017) o cumprimento desses requisitos depende de uma gestão integrada em toda a cadeia de processamento de alimentos, seleção e manuseio adequados de frutas na colheita em combinação com condições adequadas de armazenamento, são, portanto, fatores-chave na redução da patulina nos produtos finais. A pressão sobre as indústrias, particularmente as que exportam ou comercializam em mercados de alto padrão de qualidade, levou a desenvolver estratégias para prevenir e controlar a presença dessa toxina nos produtos da maçã.

Os níveis de patulina podem ser consideravelmente reduzidos através dos estágios de processamento na produção de concentrado de maçã (WELKE et al., 2009). A maior redução foi observada após a pasteurização, em que a perda de patulina foi de 39,6%. A pasta de maçã resultante da moagem apresentou altos níveis de contaminação, indicando que a patulina foi retida nos sólidos. Da mesma forma, o conteúdo de patulina foi reduzido durante a produção de purê de maçã, principalmente durante a polpação, em que os níveis diminuíram de 80% da contaminação original para 29% (JANOTOVÁ et al., 2011). No entanto, ainda assim vários estudos relataram concentrações de patulina em sucos e outros subprodutos da maçã acima dos limites estabelecidos pelas agências reguladoras (BAERT et al., 2006; MARÍN et al., 2011; HARRIS et al., 2016; IOI et al., 2017; OTEIZA et al., 2017). Uma pesquisa realizada por Dias et al. (2019) mostrou que as concentrações de patulina em maçãs e sucos de maçã comercializados na cidade de Santa Maria, Brasil, estavam, em geral, acima do LMT estabelecido. Esse fato deve ser um alerta para a população, especialmente nos casos em que essas frutas ou sucos são empregados nas dietas de crianças, um dos grupos mais afetados. Além disso, são necessárias mais informações sobre a incidência nos países em desenvolvimento com acesso limitado à tecnologia, onde o processamento mofado de frutas é uma prática regular (PATRIARCA, 2019).

5 I PATULINA E O ARMAZENAMENTO PÓS-COLHEITA

O aumento da exigência na qualidade, somado à concentrada produção de maçã em um curto período do ano, faz necessário o uso do armazenamento para fornecer ao mercado consumidor um produto de qualidade por um maior período de tempo. A atmosfera controlada (AC) é uma das técnicas mais utilizadas no armazenamento de maçãs (BRACKMANN et al., 2009; WEBER et al., 2015; ANESE et al., 2020). No entanto, mesmo em AC ocorrem perdas durante um armazenamento prolongado, em função da presença de etileno no ambiente de armazenamento. Essas perdas referem-se especialmente a ocorrência de distúrbios fisiológicos e podridões (WATKINS, 2010).

Li e Xiao (2008) afirmaram que o armazenamento em atmosfera controlada é uma das principais estratégias para reduzir a contaminação por patulina e aumentar a vida útil de maçãs. Segundo estudos de Morales et al. (2007) não foi encontrada diferença na produção de patulina em relação a fatores como: condições de AC, tempo de armazenamento, fungicida e maturação. Os autores concluíram que o fator mais importante é o tempo de

exposição dos frutos em temperatura ambiente. Outro estudo evidenciou uma relação proporcional entre o tempo de armazenamento das maçãs antes do processamento e a concentração de patulina nos sucos, particularmente em armazenamento em atmosfera controlada (BAERT et al., 2012).

Técnicas complementares a AC estão sendo bastante estudadas nos últimos anos, tais como atmosfera controlada dinâmica (ACD) envolvendo quociente respiratório (QR) e fluorescência de clorofila (FC) (DELONG et al., 2007; BOTH et al., 2014; ANESE et al., 2020). Entretanto, são recentes os estudos que relacionam essas novas estratégias de armazenamento com a presença de patulina em maçãs, além da relação com a presença ou não do inibidor de etileno 1-metilciclopropeno (1-MCP) (SANTOS et al., 2018). Os resultados publicados por esses autores evidenciaram que nenhuma das técnicas de armazenamento estudada (AC, ACD-QR e ACD-FC) foi capaz de evitar a presença desta micotoxina, tanto em maçãs 'Galaxy' quanto em 'Fuji kiku'. As condições de armazenamento (AC, ACD-FC e ACD-QR 1,3) de maçãs 'Galaxy' sem a aplicação do 1-MCP se mostraram mais eficazes em reduzir as concentrações da micotoxina, pois os frutos apresentaram patulina em concentrações inferiores ao LMT de 50 μg kg^{-1}. Entretanto, os dados encontrados nas condições de armazenamento com a aplicação do 1-MCP, mostraram que a aplicação do 1-MCP aumentou consideravelmente a produção de patulina, em que todos os valores de contaminação encontrados foram acima do LMT.

Santos et al. (2018) ainda reportaram que os valores encontrados na contaminação de patulina foram abaixo do LMT para maçãs 'Fuji kiku'. Neste estudo, não foi detectada a presença de patulina nas maçãs sadias, tanto 'Galaxy' quanto 'Fuji Kiku'. Isto mostra que maçãs com podridão contaminadas com patulina, armazenadas nas mesmas câmaras, não contaminaram as maçãs sadias de um mesmo tratamento. Ou seja, todas as diferentes formas de armazenamento a atmosfera controlada foram eficientes em prevenir a contaminação de patulina em maçãs sadias.

6 | CONCLUSÃO

A cultura da maçã é suscetível a várias doenças fúngicas, onde algumas delas iniciam no pomar, porém muitas aumentam na pós-colheita, principalmente durante o armazenamento a frio sendo nesse período que a presença de espécies toxigênicas representam um alto risco devido a produção de micotoxinas nas frutas e nos subprodutos processados. Com isso, o controle da contaminação por patulina ainda representa um desafio para a indústria da maçã, uma vez que algumas técnicas comuns de processamento tem a capacidade de reduzir a concentração desta micotoxina, estas não são suficientes para garantir a segurança alimentar, uma vez que esses compostos tóxicos são frequentemente detectados em alimentos à base de maçã. Nesse sentido, as crianças correm mais risco de exposição a patulina, pois o consumo de produtos de maçã é maior

nesta classe em comparação aos adultos. Portanto, é necessário investir em práticas de controle que impeçam a doença fúngica no armazenamento pós colheita, e além disso, estudos envolvendo o monitoramento da patulina em maçãs e seus subprodutos devem ser contínuos pois é um assunto de extrema importância para a saúde pública, visando à obtenção de produtos de qualidade.

REFERÊNCIAS

ANESE, R. O., THEWES, F. R., BRACKMANN, A., SCHULTZ, E. E., WAGNER, R., KLEIN, B., WENDT, L. M. Growth regulators on quality traits and volatile organic compounds profile of “Royal Gala” apple at harvest and after dynamic controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.164, p.111-158, 2020.

ANVISA. RDC nº 7, 18/02/11. Dispõe sobre os limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil.** 2011.

BAERT, K.; DE MEULANAER, B.; KAMALA, A.; KASASE, C.; DEVLIEGHERE, F. Occurrence of patulin in organic, conventional and handcrafted apple juices marketed in Belgium. **Journal of Food Protection,** v.69, p.1371–1378, 2006.

BAERT K.; DEVLIEGHERE F.; AMIRI A.; DE MEULENAER B. Evaluation of strategies for reducing patulin contamination of apple juice using a farm to fork risk assessment model. **International Journal Food Microbiology**, v.154, p.119-129, 2012.

BOONZAAIJER, G.; BODELDIJK, I.; VAN OSENBRUGGEN, W. A. Analysis of patulin in dutch food, an evaluation of a SPE based method. **Food Control**, v. 16, n. 7, p. 587-591, 2005.

BOTH, A.; BRACKMANN, A.; WEBER, R.O.; ANESE, F.R.; THEWES. Initial low oxygen stress followed by storage in controlled atmosphere of ‘Royal Gala’ apples. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, p. 708-717, 2014.

BRACKMANN, A.; WEBER, E.P.; PAVANELLO, V.; AMBOS, I.; SESTARI. Armazenamento em atmosfera Controlada de Maçãs mutantes de Gala. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 34, p. 136-143, 2009.

BRUZONE I: **Manzana y pera. Cadenas Aliment.** 2019. Available online in: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/ revista/ediciones/47/cadenas/r47_05_ManzanaPera.pdf.

CRUZ M.G., BASTOS R., PINTO M., FERREIRA J.M., SANTOS J.F., WESSEL D.F., COELHO E., COIMBRA M.A. Waste mitigation: from an effluent of apple juice concentrate industry to a valuable ingredient for food and feed applications. **J Clean Prod.** v. 193, p. 652-660, 2018.

CALDAS, G.M.M.; OLIVEIRA, R.C.; TESSMANN, D.J.; JUNIOR, M.M. Ocorrência de patulina em uva fina (*Vitis vinifera* L. cv. “Rubi”) com sinais de podridão ácida. **Ciência Rural,** v.38, n.1, p14-18, 2008.

CUNHA, S.C.;FARIA, M.A.; PEREIRA, V.L.; OLIVEIRA, T.M.; LIMA, A.C.; PINTO, E. Patulin assessment and fungi identification in organic and conventional fruits and derived products. **Food Control**, v. 44, p. 185-190, 2014.

DELONG, J.M.; PRANGE, R.K.; HARRISON, P.A. Chlorophyll fluorescence-based low O_2 ca storage of organic ‘cortland’ and ‘delicious’ apples. **Acta Horticulturae***.* v.737, p. 31-37, 2007.

DI MASI S., VALLE A., STATION E., AREA P. Susceptibilidad de distintos clones de Red Delicious a la presencia de corazon mohoso en cosecha y durante la conservacion en frıo. **Phytoma,** v. 231, p. 38-40, 2011.

DIAS, J.V.; DA SILVA, R.C.; PIZZUTTI, I.R.; DOS SANTOS, I.D.; DASSI, M.; CARDOSO C.D. Patulin in apple and apple juice: method development, validation by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and survey in Brazilian south supermarkets. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.82, p. 103-242, 2019.

DOORES S. The microbiology of apples and apple products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 19, p.133–149, 1983.

EMBRAPA. Análise de Contaminante em Suco de Maçã: Quantificação de Patulina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/UV-DAD). **Comunicado Técnico**. n. 202, Rio de Janeiro, 2014.

EUROPEAN COMMUNITY. **European community coments for the codex committee on food additves and contaminants**. Arusha, Tanzania, Mar. 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS: FAOSTAT, 2017. Disponível em: http://www.fao.org/ faostat/en/#data/QC.

GAO, L.L., ZHANG, Q., SUN, X.Y., JIANG, L., ZHANG, R., SUN, G.Y., ZHA, Y.L., BIGGS, A.R.: Etiology of moldy core, core browning, and core rot of Fuji apple in China. **Plant Disease,** v. 97, p. 510-516, 2013.

GOKMEN, V.; ACAR, J. Incidence of patulin in apple juice concentrates produced in Turkey. **Journal of Chromatography A**. v. 815, n.1, p. 99-102, 1998.

GONZÁLEZ, R.R.; VIDAL, J.L.M.; FRENICH, A.G. Liquid chromatography for the determination of mycotoxins in food. 1a. ed. New York: **Nova Science Publishers**, Inc., p. 74, 2010.

HARRIS, K.L., BOBE, G., BOURQUIN, L.D. Patulin surveillance in apple cider and juice marketed in Michigan. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 1255-1261, 2016.

IOI, J.D., ZHOU, T., TSAO, R., MARCONE, M.F. Mitigation of patulin in fresh and processed foods and beverages. **Toxins (Basel)**, v. 9, p. 1-18, 2017.

IARC. **Agents Classified by the International Agency of Research on Cancer Monographs** (2020) https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2020/09/List_of_Classifications.pdf

IGLESIAS, I., ECHEVERRÍA, G., & LÓPES, M. L. Fruit color development, anthocyanin content, standard quality, volatile compound emissions and consumer acceptability of several ‘Fuji’ apple strains. **Scientia Horticulturae,** v. 137, p. 138–147, 2012.

JESTOI, M. Emerging Fusarium-mycotoxins fusaproliferin, beavericin, enniatins ad moniliform: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.48 n.1, p.21-29, 2008.

JANOTOVA L, CIZKOVA H, PIVONKA J, VOLDRICH M: Effect of processing of apple puree on patulin content. **Food Control**, v. 22, p. 977-981, 2011.

KOHL J, WENNEKER M, GROENENBOOM-DE HAAS BH, ANBERGEN R, GOOSSEN-VAN DE GEIJN HM, LOMBAERS-VAN DER PLAS CH, PINTO FAMF, KASTELEIN P: Dynamics of post-harvest pathogens Neofabraea spp. and Cadophora spp. in plant residues in Dutch apple and pear orchards. **Plant Pathology,** v. 67, p. 1264-1277, 2018.

LI, H.X.; XIAO, C.L. Baseline sensitivities to fludioxonil and pyrimethanil in Penicillium expansum populations from apple in Washington State. **Postharvest Biology and Technology**. v.47, p.239–245, 2008.

MAGAN, N.; OLSEN, M. **Mycotoxins in food**: Detection and control. 1a ed. Cambridge - England: Woodhead Publishing Limited, p.488, 2004.

MARÍN, S.; MORALES, H.; HASAN, H. A. H.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V. Patulin distribution in Fuji and Golden apples contaminated with *Penicillium expansum*. **Food Additives and Contaminants**. v. 23, n. 12, p. 1316-1322, 2006.

MARINS, MATEOEM, SANCHISV, VALLE-ALGARRAFM, RAMOSAJ, JIMENEZM: Patulin contamination in fruit derivatives, including baby food, from the Spanish market**. Food Chemistry, v.** 124, p. 563-568, 2011.

MOAKE, M.M.; PADILLA-ZAKOUR, O.I.; WOROBO, R.W. Comprehensive review of patulin control methods in foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 4, p. 8-21. 2005.

MORALES, H.; SANCHIS, V.; ROVIRA, A.; RAMOS, A. J.; MARIN, S. Patulin accumulation in apples during post-harvest: Effect of controlled atmosphere and fungicide treatments. **Food Control**. v.11, p.1443–1448, 2007.

MOSS, M.O. Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables. **Applied Microbiology**. v. 104, n. 5, p. 1239-1243, 2008.

NAETS M, VAN DAEL M, VANSTREELS E, DAELEMANS D, VERBOVEN P, NICOLAI¨ B, KEULEMANS W, GEERAERD A: To disinfect or not to disinfect in postharvest research on the fungal decay of apple? **International Journal of Food Microbiology**, v. 266, p.190-199, 2018.

OTEIZA JM, KHANEGHAH AM, CAMPAGNOLLO FB, GRANATO D, MAHMOUDI MR, SANT'ANA AS, GIANUZZI L. Influence of production on the presence of patulin and ochratoxin A in fruit juices and wines of Argentina. **LWT Food Science and Technology**, v. 80, p. 200-207, 2017.

O. PUEL, P. GALTIER, I.P. OSWALD. Biosynthesis and toxicological effects of patulin. **Toxins** (Basel), v. 4, p. 613-31, 2010.

PATRIARCA, A. Fungi and mycotoxin problems in the apple industry. **Current Opinion in Food Science,** v. 29, p. 42-47, 2019.

RAJ H, SHARMA JN, GUPTA D. Epidemiology of mouldy core and core rot of apple in Himachal Pradesh, India. **Indian Phytopathology,** v. 70, p. 63-68, 2013.

SCUSSEL, V. M. Patulina. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Insular, p. 47-48, 1998.

SANTOS, I. D.; PIZZUTTI, I. R.; DIAS, J. V.; FONTANA, M. E. Z.; BRACKMANN A.; ANESE, R. O.; FABIO R. THEWES, F. R.; MARQUES, L. N.; CARDOSO, C. D. Patulin accumulation in apples under dynamic controlled atmosphere storage. **Food Chemistry**, v. 255, p. 275 – 281, 2018.

STINSON, E. E.; OSMAN, S. F.; HEISLER, E. G.; SICILIANO, J.; BILLS, D. B. Mycotoxin production in whole tomatoes, apples, oranges and lemons**. Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 4, p. 790-792, 1981.

SHEN Y, NIE J, LI Z, LI H, WU Y, DONG Y, ZHANG J: Differentiated surface fungal communities at point of harvest on apple fruits from rural and peri-urban orchards. **Scientific Reports,** v. 8, p. 1-12, 2018.

SYDENHAM, E.W.; VISMER, H.F.; MARASAS, W.F.O.; BROWN, N.L.; SCHLECHTER, M.; RHEEDER, J.P. Influence of deck storage and initial processing on patulin levels in apple juice. **Food Additives and Contaminants**, v.14, 429–434, 1997.

TOURNAS VH, UPPAL MEMON S. Internal contamination and spoilage of harvested apples by patulin-producing and other toxigenic fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 133, p. 206-209, 2009.

WATKINS, C.B. Storage disorders of controlled atmosphere-stored Empire apples. **New York Fruit Quarterly,** v. 18, n. 3, p.19-22, 2010.

WEBER, A.; BRACKMANN, A.; BOTH, V.; PAVANELLO, E.P.; ANESE, R.O.; THEWES, F.R. Respiratory quotient: innovative method for monitoring 'Royal Gala' apple storage in a dynamic controlled atmosphere. **Scientia Agricola**. v.72, n. 28-33, 2015.

A. WEBER, A. BRACKMANN, V. BOTH, E.P. PAVANELLO, R.O. ANESE, F.R. THEWES. Respiratory quotient: innovative method for monitoring 'Royal Gala' apple storage in a dynamic controlled atmosphere. **Scientia Agricola,** v. 72, p. 28-33, 2015.

WELKE J.E., HOELTZ M., DOTTORI H.A., NOLL I.B.; Effect of processing stages of apple juice concentrate on patulin levels. **Food Control**, v. 20, p. 48-52, 2009.

WENNEKER M, KO¨ HL J, VAN LEEUWEN P, PHAM K, VAN SCHAIK A: Control of postharvest storage rots of apples and pears in the Netherlands. **Acta Horticulturae** v. 1144, p.189-194, 2016.

ZBYNOVSKA K, PETRUS KA P, KALAFOVA A, CAPCAROVA M: Patulin – a contaminant of food and feed: a review. **Acta Fytotechnica Zootechnica**, v. 19, p. 64-67, 2016.

ZHONG L, CARERE J, LU Z, LU F, ZHOU T. Patulin in apples and apple-based food products: the burdens and the mitigation strategies. **Toxins** (Basel), v. 10, p. 1-30, 2018.

CAPÍTULO 21

PESQUISA DE MERCADO: EMBALAGEM DE ALIMENTOS FEITA A PARTIR DA FLOR DA BANANA E FIBRA DE COCO, REVESTIDA COM CERA DE ABELHA E ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM E ORÉGANO

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 02/02/2021

Sarah da Costa Santos
Instituto Federal Fluminense *campus* Bom Jesus do Itabapoana
Bom Jesus do Itabapoana – RJ
http://lattes.cnpq.br/1582320665540717

Daniel Saraiva Lopes
Instituto Federal Fluminense *campus* Bom Jesus do Itabapoana
Bom Jesus do Itabapoana – RJ
http://lattes.cnpq.br/4173767785930658

Júlio da Silveira Ornellas
Instituto Federal Fluminense *campus* Bom Jesus do Itabapoana
Bom Jesus do Itabapoana – RJ
http://lattes.cnpq.br/7552014278661211

Christyane Bisi Tonini
Instituto Federal Fluminense *campus* Bom Jesus do Itabapoana
Bom Jesus do Itabapoana – RJ
http://lattes.cnpq.br/6104455709312515

Fabrício Barros Gonçalves
Instituto Federal Fluminense *campus* Bom Jesus do Itabapoana
Bom Jesus do Itabapoana – RJ
http://lattes.cnpq.br/8055386051916368

RESUMO: Trata-se de uma pesquisa de mercado que teve como objetivo analisar a aceitabilidade de uma embalagem de alimentos feita a partir de resíduos agroindustriais. Através de um questionário online foram feitas perguntas acerca da embalagem, no qual os resultados obtidos foram aceitáveis.
PALAVRAS-CHAVE: Resíduo Agroindustrial, Meio Ambiente, Inovação.

MARKET RESEARCH: FOOD PACKAGING MADE FROM BANANA FLOWER AND COCONUT FIBER, COATED WITH BEE WAX AND ESSENTIAL ESSENTIAL OIL FROM ORGANIC

ABSTRACT: This is a market survey that aimed to analyze the acceptability of food packaging made from agro-industrial waste. Through an online questionnaire, questions were asked about the packaging, in which the results obtained were acceptable.
KEYWORDS: Agroindustrial waste, Environment, Innovation.

1 I INTRODUÇÃO

Com a modernização do setor alimentício, em reflexo da era pós-moderna, as embalagens ganharam funções que vão além de conter, proteger e viabilizar o transporte dos produtos, elas se tornaram ponto chave no papel de atrair o consumidor, assumindo características inovadoras, prática e de responsabilidade ambiental (COLLARO, 2015).

Em virtude disso o vigente trabalho teve como objetivo estudar a aceitação de uma proposta de embalagem ativa e ecológica fabricada com fibra de coco, flor de bananeira, utilizando cera de abelha como impermeabilizante, óleos essenciais de alecrim e

Orégano para acondicionar torradas. O trabalho se justifica com o propósito de agregar valor a uma biomassa pouco utilizada para fins industriais utilizando materiais e aditivos naturais que proporcionam a sua impermeabilidade, ação antifúngica e aromatização do produto nela contido (SANTOS, 2014).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se a plataforma Google "*Forms*" para o desenvolvimento do questionário e aplicação da pesquisa de mercado. O público-alvo da pesquisa foram pessoas com idades que variam de 18 a 70 anos.

Questões iniciais foram elaboradas com o objetivo de possibilitar o conhecimento do perfil de consumo dos entrevistados. Em seguida, foram feitas perguntas específicas, utilizando recursos de imagens e textos para ilustrar termos técnicos a fim de tornar a coleta de dados mais uniforme, dando assim, credibilidade às respostas obtidas.

As perguntas utilizadas foram: "Qual característica da embalagem do produto chama mais a sua atenção?", "Você encontra facilmente no mercado embalagens ecológicas na área alimentícia?", "Você pagaria mais caro em um produto só por sua embalagem ser diferenciada?" e "Você compraria uma torrada acondicionada em uma embalagem feita a partir de resíduos agroindustriais?".

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos dados obtidos no questionário online, a faixa etária em que se encontra o público participante está entre os jovens, onde estes possuem maior peso no mercado consumidor em virtude de 87,9 % dos entrevistados possuírem entre 18 a 28 anos de idade. Outra informação importante levantada sobre o público é o sexo, uma vez que existem diferenças no comportamento dos consumidores se mulheres ou homens.

Na presente pesquisa, 67,2 % dos entrevistados eram do sexo feminino. Segundo Aquino e Philippi (2002), a praticidade, rapidez e durabilidade, contribui para a aceitação do produto nos hábitos alimentares da família. Para Gouveia (2006), entre as mulheres destaca-se uma maior preocupação com a leitura de rótulos, atração pela embalagem, dentre outros, diferente dos homens que não se preocupam com o que estão consumindo.

3.1 Perfil das respostas sobre embalagem

Na questão a respeito de qual característica presente na embalagem chama mais a atenção do consumidor, 44 % dos entrevistados afirmaram que a informação sobre o produto é o fator mais importante presente na embalagem (Figura 1). Segundo Abre (2018),

uma das funções mais importantes da embalagem é informar o consumidor por meio de textos e desenhos apresentados em seu rótulo.



Figura 1: Resposta dos entrevistados sobre a característica que mais chama a atenção do consumidor no momento da compra.

Fonte: Autores.

Quando questionados sobre a facilidade de se encontrar embalagens ecológicas no setor alimentício, 88,8% dos entrevistados responderam negativamente a esta pergunta, conforme dados apresentados na (Figura 2). Sabe-se da importância deste tema e desta conscientização da população pela procura desse tipo de material, uma vez que as embalagens plásticas possuem grande potencial de geração de lixo e poluição ambiental (BRASIL, 2018; SACHS, 2005).

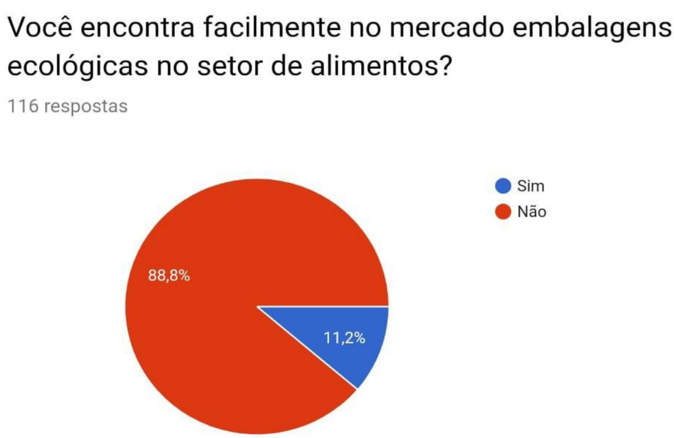


Figura 2: Resposta dos entrevistados sobre facilidade em encontrar embalagens ecológicas em alimentos.

Fonte: Autores.

Quando questionados acerca da intenção de investimento em um produto cujo valor fosse acrescido devido ao uso de embalagens diferenciadas, mais da metade (54 %) dos entrevistados responderam que talvez comprariam (Figura 3).



Figura 3: Resposta dos entrevistados sobre a intenção de compra de embalagens diferenciadas.

Fonte: Autores.

Por fim, foi levantado junto aos entrevistados a seguinte questão: “*Você compraria uma torrada acondicionada em uma embalagem feita a partir de resíduos agroindustriais?*”, foram obtidos mais de 50% dos votos favoráveis à temática principal do projeto (Figura 4).



Figura 4: Resposta dos entrevistados sobre a intenção de compra de uma torrada acondicionada em uma embalagem oriunda de resíduos agroindustriais.

Fonte: Autores.

4 I CONCLUSÃO

Percebeu-se que o produto pautado recebeu um alto grau de aceitação dentro da população participante da pesquisa, o que torna favorável o desenvolvimento de um projeto neste sentido, a fim de diminuir os impactos ambientais gerados por polímeros convencionais, dando um novo destino ao que outrora era visto como "lixo". Além disso, salientou uma zona de investimento para o setor que busca a redução do impacto ambiental gerado pelo descarte de produtos de baixo interesse pelo mercado.

AGRADECIMENTOS

À Deus, ao grupo e aos professores. Viva o MEJ!

REFERÊNCIAS

AQUINO, R. C.; PHILIPP, S. T. **Consumo infantil de alimentos industrializados e renda familiar na cidade de São Paulo.** Revista de Saúde Pública, São Paulo, v.36, n.6, p. 655-660, 2002.

GOUVEIA, T. M. **Os homens e seus carrinhos... de compras: um estudo sobre o comportamento do consumidor masculino no supermercado.** 2006. Dissertação (Mestrado em Administração e Economia) - Faculdade Ibmec, Rio de Janeiro, 2006

COLLARO, A.; COLLARO, I. **A Importância Da Embalagem No Marketing Do Produto.** In: Criação De Embalagens Competitivas. Rio de Janeiro: Editora Campus, 2015. p. 85–94.

SANTOS, T, A, F. **Extração, caracterização e aplicações do óleo essencial do cravo- da-índia (*Syzygium Aromaticum*).** FAPI: Faculdade de Pìndamonhangaba, Pindamonhangaba-SP, 2014.

CAPÍTULO 22

ANÁLISE REOLÓGICA DO AZEITE DE BOCAIUVA *(Acrocomia aculeata)* E DO AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 17/03/2021

Thomas Ken Konishi
Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Faculdade de Engenharia (FAEN)
Dourados-Mato Grosso do Sul, Brasil

Maycon Roberto da Silva
Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Faculdade de Engenharia (FAEN)
Dourados-Mato Grosso do Sul, Brasil

Sueli Marie Ohata
Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Faculdade de Engenharia (FAEN)
Dourados-Mato Grosso do Sul, Brasil
http://lattes.cnpq.br/8048143943208747

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi realizar a análise reológica do azeite de bocaiuva e do azeite de oliva tipo extra virgem, utilizando um viscosímetro Brookfield, modelo DV-II+PRO, utilizando um adaptador de pequenas amostras e o spindle SC4-31 acoplado à um banho termostático. A geometria utilizada foi a de cilindros concêntricos. As leituras de viscosidade foram realizadas na faixa de temperatura entre 20 a 60⁰C com taxa de deformação mantida a 50 s^{-1}. Analisou-se também o comportamento da viscosidade com variação da taxa de deformação na faixa de 0 a 60 s^{-1}, nas temperaturas de 25 e 60°C. Também foi verificado a influência da taxa de deformação (0 a 60 s^{-1}) sobre a tensão de cisalhamento nas condições de 25 e 60⁰C. O efeito da temperatura na viscosidade, analisado pela equação de Arrhenius. Os resultados obtidos indicaram diminuição da viscosidade com o aumento da temperatura. Os valores de viscosidade obtidos para o azeite de bocaiuva foram maiores em todas as temperaturas e taxas de deformações analisadas, quando comparados com o azeite de oliva extra virgem. Os valores obtidos para a energia de ativação (Ea) foram 27,52 e 28,80 $kJ.mol^{-1}$ para o óleo da polpa de bocaiuva e azeite de oliva, respectivamente. A relação entre a tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação, apresentou uma linearidade entre elas, caracterizando um comportamento Newtoniano.

PALAVRAS-CHAVE: Viscosidade, Newtoniano, energia de ativação.

RHEOLOGICAL ANALYSIS OF BOCAIUVA OIL *(Acrocomia aculeata)* AND OLIVE OIL EXTRA VIRGIN

ABSTRACT: The objective of this study was to rheological analysis of oil bocaiuva and olive oil extra virgin, using a Brookfield viscometer, DV-II + PRO model, using a small sample adapter and spindle coupled to SC4-31 a thermostatic bath. The geometry used was the concentric cylinders. Viscosity measurements were carried out in the temperature range of 20 to 60°C with shear rate maintained at 50 s^{-1}. It was also analyzed the behavior of viscosity with varying the shear rate in the range from 0 to 60 s-1, at temperatures of 25 to 60°C. Also there is the influence of shear

rate (0 to 60 s^{-1}) on shear stress conditions at 25 to 60°C. And the effect of temperature on viscosity, described by the Arrhenius equation. The results obtained indicated a decrease in viscosity with increasing temperature. The viscosity values obtained for oil bocaiuva were higher at all temperatures and shear rates analyzed compared to olive oil extra virgin. The values obtained for the activation energy (Ea) were 27.52 and 28.80 $kJ.mol^{-1}$ for oil bocaiuva and olive oil, respectively. The relationship between the shear stress versus shear rate, showed a linearity between them featuring a Newtonian behavior.
KEYWORDS: Viscosity, Newtonian, activation energy.

1 I INTRODUÇÃO

A bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd) é uma palmeira que pertence à família Arecaceae. Está amplamente distribuída em quase todo o Brasil, sendo abundante no Mato Grosso do Sul e Mato Grosso e oeste do Estado de São Paulo. Comumente conhecida como bocaiuva, macauba, coco-babão, bacaúva, mocajuba, macaíba é encontrada nas regiões tropicais, sendo abundante no cerrado brasileiro (HIANE *et al.*, 2006; LORENZI, 2006).

De acordo com Mariano (2014), os frutos da bocaiuva fornecem dois tipos de óleos economicamente importantes: o azeite (proveniente da polpa) e o óleo da castanha.

O óleo da castanha da bocaiuva é composto principalmente por ácidos graxos saturados (aproximadamente 71%), em especial o ácido láurico, que confere ao óleo maior ponto de fusão e maior estabilidade. O segundo ácido graxo predominante no óleo da castanha da bocaiuva é o ácido oléico (monoinsaturado). Quando cuidadosamente extraído, o óleo da castanha pode apresentar qualidades e características de acidez e transparência semelhantes a dos óleos refinados industrialmente (LORENZI, 2006). Já a polpa da bocaiuva é composta em sua maior parte por ácidos graxos insaturados, sendo o ácido oléico o de maior incidência, correspondendo a cerca de 53% do total de ácidos graxos (MARIANO, 2014).

Os métodos usuais de extração de óleos vegetais podem ocorrer por prensagem mecânica ou com uso de solventes. Métodos mais avançados empregam o uso de fluidos supercríticos e enzimas.

Como a utilização do óleo da bocaiuva vem sendo relatada nas áreas medicinal, alimentício, cosméticos, entre outros (NUCCI, 2007; AMARAL, 2007), seria importante a obtenção de informações a respeito do comportamento reológico.

Segundo Barros (2008), na área alimentar, a reologia caracteriza como sendo o estudo da deformação da matéria prima, dos produtos intermediários e dos produtos finais na indústria de alimentos.

O comportamento reológico de óleos vegetais e de seus derivados analisa importantes propriedades como a viscosidade, que corresponde a resistência de um líquido ao fluxo induzido por uma tensão aplicada (MOTHÉ, 2009). O conhecimento e controle

das propriedades reológicas na formulação de produtos industrializados fornecem dados auxiliares que podem ser utilizados nos processos de estocagem e aplicação de grande variedade de óleos vegetais e seus derivados, como por exemplo, para fins alimentícios, lubrificantes, carburantes, entre outros. Além do comportamento durante o transporte, a análise reológica fornece dados de viscosidade em condições específicas de análise (MELO, 2010).

Poucos trabalhos foram encontrados referente aos óleos vegetais provenientes do bioma cerrado. Alguns estudos sobre o óleo extraídos da polpa e da amêndoa da bocaiuva, do buriti e do pequi. Alguns avaliaram os métodos de extração (ALVES *et al.*, 2012; NUNES, 2013); outros autores avaliaram as propriedades físicas e químicas (ZANATTA, 2015; AQUINO *et al.,* 2012; RIBEIRO, 2010; AMARAL, 2007). Também foram encontrados estudos sobre microencapsulação de óleos (LESCANO, 2013) e aplicações em cosméticos (PIANOVSKI, 2008).

As informações sobre o comportamento reológico na literatura a respeito de óleos vegetais provenientes de frutos do cerrado foram muito escassas. Mariano (2014) estudou métodos de fracionamento de gorduras sólidas, a partir de óleo de pequi e da macaúba. Também analisou o comportamento reológico de ambas as amostras utilizando um reômetro oscilatório da marca Thermo Scientific.

Desse modo, o objetivo principal foi caracterizar o comportamento reológico do azeite extraído da polpa de bocaiuva e comparar com o azeite de oliva tipo extra virgem, submetidos à diferentes temperaturas e taxas de deformação.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

O azeite de bocaiuva prensada a frio sem nenhum tratamento adicional, foi fornecido pelo grupo GEPPAC (Grupo de Estudos em Produtos e Processados Agroindustriais do Cerrado) - UFGD. E o azeite de oliva tipo extra virgem (marca importada de Portugal) foi adquirido no comércio local da cidade de Dourados – Mato Grosso do Sul. As análises foram realizadas nas dependências dos laboratórios da Universidade Federal da Grande Dourados/MS.

2.2 Preparo das amostras

A amostra do azeite de bocaiuva foi mantida sob refrigeração (~7^0C) em um vidro âmbar. Devido ao estado físico sólido apresentado sob temperatura de refrigeração, uma quantidade de amostra suficiente era mantida sob temperatura ambiente momentos antes das análises até que retornasse ao estado líquido. E a amostra comercial de azeite de oliva extra virgem, em torno de 10 mL, foi mantida à temperatura ambiente, em um local arejado.

2.3 Métodos

2.3.1 Medidas de Viscosidade

As leituras para determinação das medidas reológicas foram realizadas em um viscosímetro digital Brooklfield, modelo DV-II+ PRO, utilizando o dispositivo de pequenas amostras 13RP, câmara de amostras SC -*R e do spindle SC4-31 selecionado após testes preliminares acoplado a um banho termostatizado com circulação forçada de água, modelo TC-550 da marca Brookfield.

Inicialmente, as medidas de viscosidade foram obtidas em temperaturas entre 20 a 60°C, e taxa de deformação fixa de 50 s^{-1} para ambas as amostras. Na segunda etapa foram realizadas medidas utilizando taxas de deformação entre 0 a 60 s^{-1}, nas condições de 25 e 60°C. A taxa de deformação máxima foi escolhida em função da recomendação do fabricante em relação ao spindle SC4-31 que estabelece valores entre 0 a 68 s^{-1}. Foram obtidos dados de leitura, na ordem crescente de taxa de deformação e retornando na ordem decrescente para analisar o tipo do comportamento de escoamento.

As leituras foram realizadas em triplicata, sendo utilizada uma nova amostra para cada repetição. Para permitir o equilíbrio de temperatura, as amostras foram deixadas em repouso durante 10 minutos na câmara de amostras SC -*R, antes do início de cada experimento.

A partir dos resultados obtidos foram analisados graficamente o comportamento da viscosidade das amostras com a variação de temperatura entre 20 a 60°C à 50 s^{-1} e o comportamento da viscosidade com a variação da taxa de deformação submetida à temperaturas de 25 e 60°C.

2.3.2 Efeito da temperatura

A influência da temperatura sobre a viscosidade aparente foi analisada utilizando-se a Equação de Arrhenius (Equação 1). As temperaturas em graus Celsius (ºC) foram convertidas para Kelvin (K) e em seguida calculados o inverso da temperatura (K^{-1}). O logaritmo natural da viscosidade aparente (mPa.s) em função do inverso da temperatura (K^{-1}) foram plotados em um gráfico através do programa Microsoft Office Excel (2010). E a partir da regressão linear foram obtidos os valores de Energia de ativação (Ea).

$$n = n_0 \exp\left[-\frac{E_a}{RT}\right] \quad (1)$$

onde:

n - Viscosidade aparente (mPa s);

n_0 - Constante (mPa s);

Ea - Energia de ativação (kJ/g mol);

R - Constante universal dos gases (kJ/ mol K);

T – Temperatura (K).

2.3.3 Análise Estatística

Os resultados do teste de aceitação foram avaliados mediante análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (Tukey 5% de significância), utilizando-se o software STATISTICA® 8.0.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 representa o comportamento da viscosidade de ambas as amostras em função da temperatura analisados em um intervalo entre 20 à 60°C, submetidos à taxa de deformação de 50 s^{-1}.

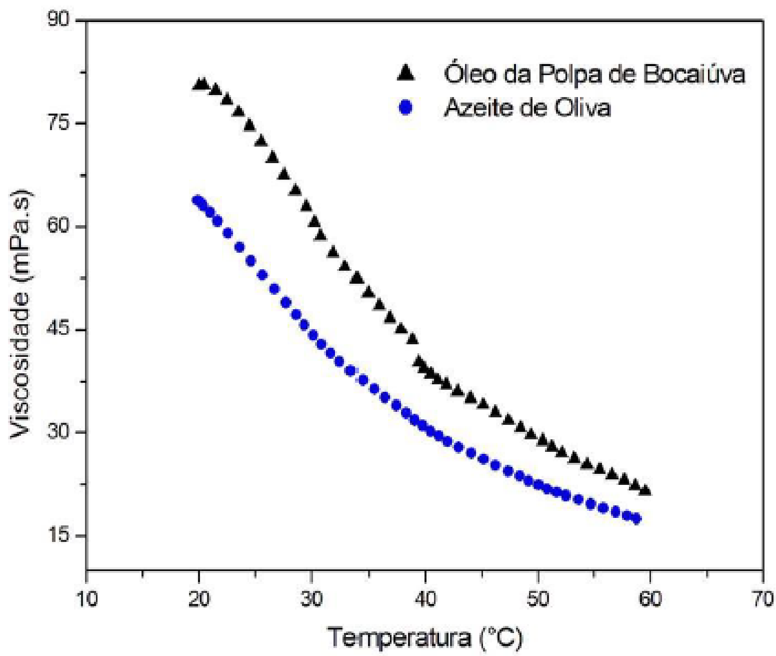


Figura 1. Viscosidade do óleo azeite de bocaiuva e do azeite de oliva tipo extra virgem (20 a 60ºC, 50s^{-1}).

A Figura 1 indica que os valores da viscosidade do azeite de bocaiuva foram superiores em comparação com o azeite de oliva, independente da temperatura submetida. Essa diferença pode ser atribuída aos valores de ácidos graxos saturados superiores encontrados na literatura para o azeite de bocaiuva quando comparado ao azeite de oliva extra virgem.

Mariano (2014) estudou o fracionamento do óleo de bocaiuva e de pequi, apresentando a composição percentual de ácidos graxos para os óleos íntegros e suas frações. A porcentagem de ácidos graxos saturados encontrada para o azeite de bocaiuva foi de 26,17% e a de insaturados, 73,84%. Custódio (2009) analisou amostras comerciais de azeite extra virgem provenientes de várias regiões de Portugal e encontrou valores entre 13,43 a 15,89% de ácidos graxos saturados. Dessa forma, verifica-se que o teor de ácidos graxos presentes no azeite de bocaiuva é maior em relação ao azeite extra virgem comercial.

A partir dos dados obtidos pode se observar um declínio nos valores da viscosidade para uma taxa de deformação fixa de 50 s^{-1} à medida que ocorre o aumento da temperatura, fato que foi observado também por Freitas *et al*. (1998) para o óleo de palma bruto.

Segundo Kahn *et al*., (1990) e Forster e Ferrier (1979), a viscosidade de óleos vegetais comestíveis diminui à medida que a temperatura do meio aumenta, isso ocorre devido a um movimento térmico maior entre as moléculas, reduzindo assim a viscosidade.

De acordo com Hassan e Hobani (1998), o aumento da temperatura e, consequentemente, a energia térmica conduz ao aumento das distâncias moleculares devido a uma redução das forças moleculares. Além disso, com o aumento da temperatura, a tensão de cisalhamento é maior, fazendo com que um rearranjo das partículas em direções paralelas e a sua quebra em partículas menores. Essas partículas podem fluir mais facilmente, devido a diminuição das interações de partícula-partícula, resultando na diminuição da viscosidade.

Haminiuk *et al*. (2006) cita que isso ocorre devido a associação de força de cisalhamento com a temperatura, provocando a reorganização das partículas em uma direção paralela à força de cisalhamento, além disso, pode ocorrer a quebra das partículas em partículas menores, resultando em uma maior fluidez, ocasionando assim a diminuição da viscosidade aparente.

A Figura 2 apresenta os valores de viscosidade submetidos a uma temperatura de 25°C, com taxas de deformação entre 10 a 60 s^{-1}.

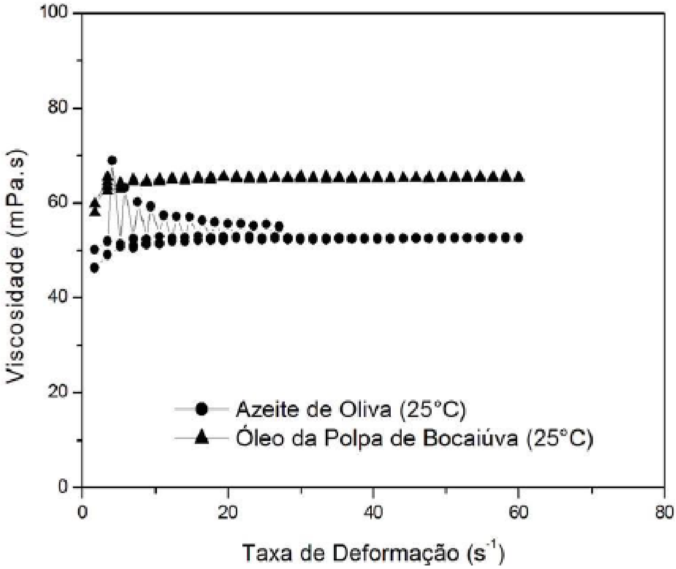


Figura 2. Viscosidade em função da taxa de deformação (10 a 60 s^{-1}) para o azeite de oliva extra virgem e o azeite de bocaiuva a 25°C.

A Figura 2 representa a influência da taxa de deformação na viscosidade das amostras a uma temperatura fixa de 25°C. Pode-se observar que para o azeite de bocauva, como não houve influência significativa da taxa de deformação na viscosidade a partir de 10 s^{-1}, apresentando o comportamento de um fluido Newtoniano. Já a viscosidade do azeite de oliva diminuiu entre as faixas de 0 a 25 s^{-1}. E a partir de 30 s^{-1}, como os valores obtidos para a viscosidade foram constantes, não houve alteração da viscosidade, o comportamento tem característica de um fluido Newtoniano.

Comportamento semelhante foi observado no estudo de Brock *et al.*,(2008), onde foi analisado a viscosidade em função da taxa de cisalhamento para o óleo de milho a 20 °C. Os autores observaram uma variação significativa nos valores de viscosidade para taxas de deformação inferiores à 5 s^{-1} e concluíram que o óleo de milho apresentou comportamento não Newtoniano para esta faixa analisada (< 5 s^{-1}). E observaram também que a partir de 5 s^{-1}, como não houve alteração da viscosidade, concluíram que o comportamento foi Newtoniano.

Mariano (2014), obteve medidas de viscosidade do azeite de bocaiuva e pequi à 20°C, com uma geometria tipo placa-placa utilizando um reômetro oscilatório da marca Thermo Scientific. As viscosidades encontradas para o óleo da polpa de bocaiuva e de pequi foram 137,91 e 95,14 mPa.s, respectivamente. Enquanto o experimento realizado por Melo (2010) foram encontrados (46,33 e 56,05 mPa.s, respectivamente) para os mesmos óleos, submetidos à uma temperatura de 25°C e taxa de deformação entre 0 a 70 s^{-1}, que foram valores próximos aos resultados obtidos neste trabalho. Melo (2010) efetuou as

medidas utilizando também o viscosímetro da marca Brookfield e o spindle SC4-31, como no presente trabalho.

A Figura 3 apresenta os valores de viscosidade submetidos a uma temperatura de 60°C, com taxas de deformação entre 10 a 60 s^{-1}

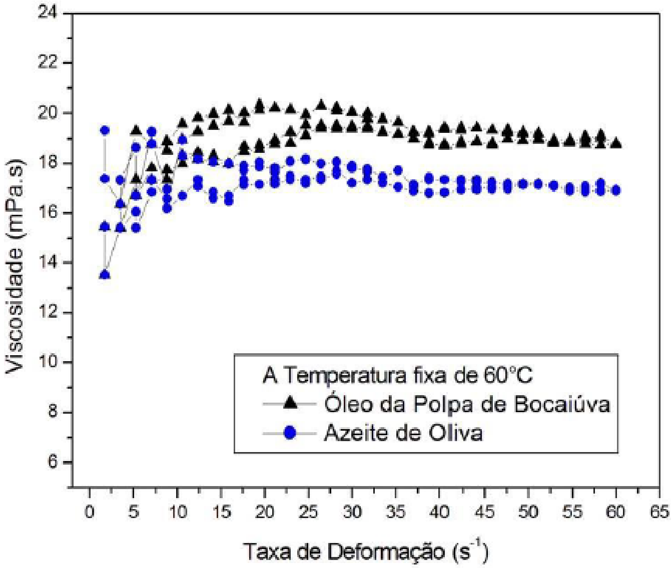


Figura 3. Viscosidade em função da taxa de deformação (10 a 60 s^{-1}) para o azeite de oliva extra virgem e o azeite de bocaiuva a 60°C.

A Figura 3 representa a influência da taxa de deformação na viscosidade das amostras a uma temperatura fixa de 60°C. Observa-se que houve variação significativa para os valores da viscosidade de ambas as amostras à taxas de deformação até 40 s^{-1}, indicando um comportamento não Newtoniano. A partir de valores superiores à 40 s^{-1}, o comportamento foi Newtoniano, não ocorrendo uma variação significativa nos valores de viscosidade obtidos.

As variações da viscosidade observadas na Figura 2 e 3 quando submetidas a condições determinadas de taxas de deformação e respectivas temperaturas merecem uma análise posterior.

As Figuras 4 e 5 a seguir, mostram a relação entre a tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação, a uma temperatura fixa de 25°C e 60°C para ambas as amostras. Pode-se observar que essa relação é diretamente proporcional, pelo fato de que quanto maior a taxa de deformação, maior também será a tensão de cisalhamento. Segundo Fellows (2006) quando há uma linearidade entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação partindo-se da origem do gráfico, o fluido é considerado newtoniano.

O mesmo comportamento foi encontrado nos estudos encontrados na literatura para alguns óleos vegetais (CONCEIÇÃO *et al*., 2005; COSTA, 2015; TEIXEIRA, 2013).

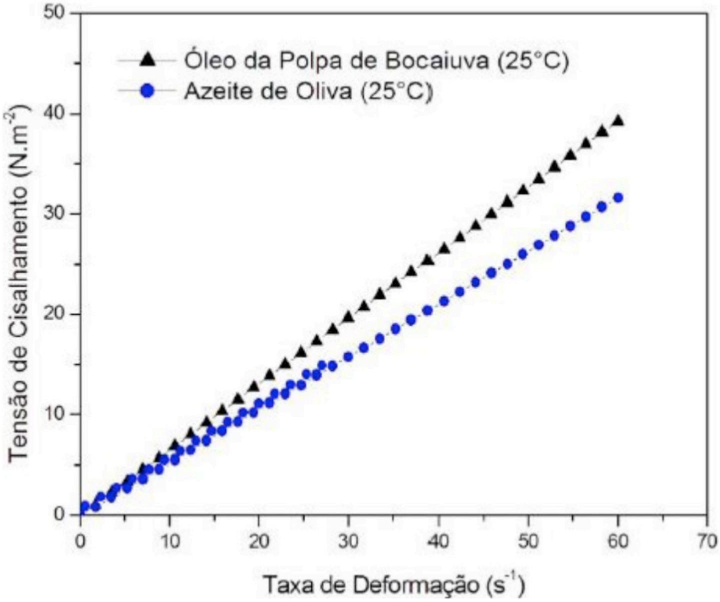


Figura 4.Tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação para o óleo da polpa de bocaiuva e para o azeite de oliva tipo extra virgem a 25°C.

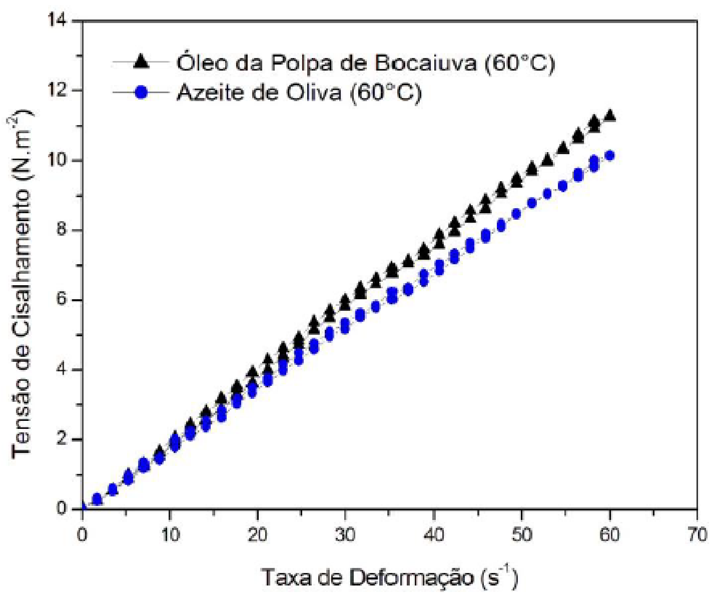


Figura 5. Tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação para o óleo da polpa de bocaiuva e para o azeite de oliva tipo extra virgem a 60°C.

A partir da análise das Figuras 4 e 5, observa-se o mesmo comportamento para ambas amostras, submetidos a 25 ou 60°C, ou seja, ocorre uma linearidade entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação, partindo dos valores da origem do gráfico, concluindo que ambas as amostras apresentaram comportamento Newtoniano nas condições estudadas.

Verificou-se que na condição de menor temperatura (25°C), quanto maior for a taxa de deformação aplicada, maior será a tensão de cisalhamento requerida para o óleo da polpa de bocaiuva em relação ao azeite de oliva extra virgem. O mesmo comportamento ocorreu na condição de maior temperatura (60°C), porém os maiores valores de tensão foram obtidos a 25°C. Pode-se concluir que os resultados estão coerentes, pois os valores da viscosidade obtidos para o óleo da polpa de bocaíuva foram superiores em ambas as temperaturas analisadas, quando comparados com o azeite de oliva extra virgem. Observa-se na Figura 4, que foi requerida uma maior tensão de cisalhamento (40 $N.m^2$) para que houvesse a deformação da amostra (por exemplo à 60 s^{-1}), enquanto na Figura 5 foi necessária uma tensão de cisalhamento de 12 $N.m^2$ para que a amostra se deformasse na mesma taxa analisada (60s^{-1}).

T (°C)	Viscosidade (mPa.s)	
	Azeite de Bocaiuva	Azeite de oliva extra virgem
20	80,56a	63,14b
25	72,41a	52,97b
30	60,64a	44,21b
35	50,38a	36,40b
40	38,55a	30,27b
45	34,06a	26,16b
50	28,76a	22,41b
55	24,54a	19,11b
60	21,48a	17,55b

Valores médios das análises feitas em triplicata. Médias seguidas pela mesma letra (a - b), na mesma coluna e para os dois óleos (Azeite de bocaiuva e azeite de oliva extra virgem) não diferem significativamente pelo teste de Tukey($p<0,05$).

Tabela 1. Viscosidade do azeite de bocaiuva e azeite de oliva extra virgem (20 a 60°C, 50s^{-1}).

Os resultados do ajuste da equação de Arrhenius aos dados de viscosidade são apresentados pela Figura 6 e a Tabela 2 mostra os valores estimados de energia de ativação (Ea) para ambas as amostras.

	Energia de ativação (kJ.mol^{-1})	Coeficiente de correlação (R^2)
Azeite de Bocaiuva	27,52	0,9949
Azeite de Oliva	28,80	0,9992
Azeite de Bocaiuva (Literatura)	**	**
Azeite de Oliva (Literatura)	27,78[1]	0,9983[1]

(1) CANCIAM, 2010. **- Não foram encontrados na literatura dados correlacionados nas condições de análise.

Tabela 2. Energia de ativação (E_a) e coeficiente de correlação (R^2) do azeite de bocaiuva e azeite de oliva extra virgem.

No bioma do cerrado frutos como pequi, apresentam valores próximos ao encontrados no presente trabalho, no experimento de Justi (2012) obteve uma energia de ativação de 20,3 kJ.mol^{-1}.

Valores da energia de ativação (Ea) e do parâmetro coeficiente de correlação para os azeites de bocaiuva foi pesquisado na literatura para comparação, entretanto não foi encontrado.

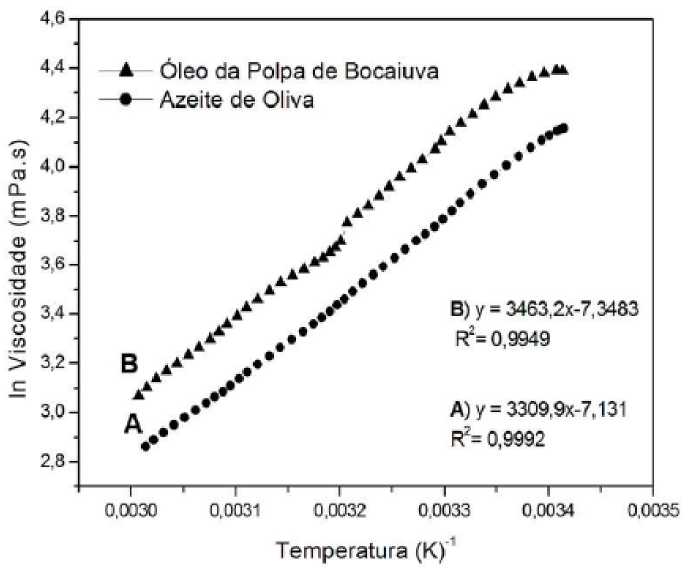


Figura 6. Efeito da temperatura sobre a viscosidade aparente do óleo da polpa de bocaiuva e do azeite de oliva extra virgem (50 s^{-1}).

Analisando a Figura 6, observa-se que a equação de Arrhenius se ajustou bem aos dados de viscosidade obtidos experimentalmente sob as diferentes temperaturas analisadas.

A energia de ativação (E_a) encontrada para o azeite de bocaiuva e para o azeite de oliva foi de 27,52 $kJ.mol^{-1}$ e 28,80 $kJ.mol^{-1}$ respectivamente, obtendo um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9992 para o azeite de oliva e 0,9949 para o óleo da polpa de bocaiuva.

Analisando a Figura 6, verifica-se que o azeite de oliva tipo extra virgem apresenta a maior energia de ativação, enquanto que o azeite de bocaiuva apresenta a menor energia de ativação.

Os valores da energia de ativação indicam o grau de sensibilidade da viscosidade frente a alterações de temperatura. Assim, quanto maior for a energia de ativação, menor será a sensibilidade da viscosidade em relação à temperatura. Portanto, analisando os valores obtidos para a energia de ativação, o azeite de bocaiuva apresentou maior sensibilidade da viscosidade em relação a mudança de temperatura, comparado ao azeite de oliva e coerente com os resultados obtidos anteriormente. De acordo com Haminiuk *et al.*, (2006), à medida que a temperatura aumenta, o liquido flui mais facilmente devido a maior energia de ativação em altas temperaturas.

4 I CONCLUSÃO

Pode se concluir, o azeite de oliva extra virgem apresentou valores de viscosidade inferiores em relação ao do azeite de bocaiuva nas temperaturas entre 20 a 60°C.

A energia de ativação (E_a) encontrada para o azeite de bocaiuva e para o azeite de oliva foi de 27,52$kJ.mol^{-1}$ e 28,80$kJ.mol^{-1}$ respectivamente, indicando que o azeite de oliva apresentou uma menor sensibilidade da viscosidade em relação a mudança de temperatura, comparado ao azeite de bocaiuva.

Foi possível caracterizar o comportamento como newtoniano para ambos os óleos, nas condições estudadas, devido a linearidade apresentada entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação.

REFERÊNCIAS

ALVES, G. S.; OLIVEIRA, L. C. P.; PORTO, A. G.; SILVA, F. S.; SILVA, F. T. C.; NEVES, E. Extração e avaliação do rendimento de óleo da polpa de bocaiuva. **Revista CITINO,** Barra do Bugres, v. 2, n. 3, p.30-35, 2012.

AMARAL, F. P. **Estudo das características físico-químicas dos óleos da amêndoa e polpa da macaúba [*acrocomia aculeata* (jacq.) lodd. ex mart]**. 2007. 52f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2007.

AQUINO, J. S.; PESSOA, D. C. N. P.; ARAUJO, K. L. G. V.; EPAMINONDAS, P. S.; SCHULER, A. R. P.; SOUZA, A. G.; STAMFORD, T. L. M.; Refining of buriti oil (Mauritia flexuosa) originated from the brazilian cerrado: physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications. **Journal of the Brazilian Chemical Society,** João Pessoa, v. 23, n. 2, p.212-219, 2012.

BARROS, A. C. F.; OLIVEIRA, E. P. O.; ALVES, S. B.; SILVA, Z. E. da. Caracterização Reológica de Polpa de Goiaba – Aplicação de Métodos Inversos. In: Congresso Nacional de Engenharia Mecânica, 5, 2008, Salvador. **Resumos...** Salvador: Associação Brasileira de Engenharia Mecânica, 2008.

BROCK, J.; NOGUEIRA, M. R.; ZAKRZEVSKI, C.; CORAZZA, F. C.; CORAZZA, M. L.; OLIVEIRA, J. V.; Determinação experimental da viscosidade e condutividade térmica de óleos vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 28, n. 3, p.564-570, 2008.

CANCIAM, C. A.; Efeito da Temperatura na Viscosidade de Óleos Vegetais Refinados. **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharia,** Ponta Grossa, v. 16, n. 1, p.7-12, 2010.

CONCEIÇÃO, M. M.; CANDEIA, R. A.; DANTAS, H. J.; SOLEDADE, L. E. B.; FERNANDES, V. J.; SOUZA, A. G.; Rheological Behavior of Castor Oil Biodiesel. **Energy & Fuels**, v. 19, n. 5, p. 2185-2188, 2005.

COSTA, S. D. C. - **Obtenção e análise de propriedades e parâmetros físico-químicos do óleo de oiticica.** Monografia, UFRN, Departamento de Engenharia Química, 2015.

CUSTÓDIO, T. A. S.; **Azeites extra-virgem comerciais: composição em compostos voláteis e relação com parâmetros químicos de qualidade.** 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, 2009.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**: Princípios e prática. 2.ed., Porto Alegre, Ed. Artmed, 2006.

FORSTER, L.L., FERRIER, L.K. Viscometric characteristics of whole soybean milk. **Journal of Food Science**, v.44(2), p.583–585, 1979.

FREITAS, S.P.; SILVA, F.C.; LAGO, R.C.A; COURI, S. Efeito de enzimas hidrolíticas no comportamento reológico de óleo de palma cru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.1, 1998.

HAMINIUK, C. W. I.; SIERAKOWSKI, M. R.; IZIDORO, D. R.; MASSON, M. L. Caracterização reológica da polpa de amora preta. **Brazilian Journal of Food Technology, Campinas-SP**, v. 9, n.4, p. 291-296, 2006.

HAMINIUK, C.W.I.; SIERAKOWSKI, M.R.; VIDAL, J.R.M.B.; MASSON, M.L. Influence of temperature on the rheological behavior of whole araçá pulp (*Psidium cattleianum* sabine). **Food Science and Technology.** v.39, p. 426-430, 2006.

HASSAN, B.H., HOBANI, A.I. Flow properties of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) extract. **Journal of Food Engineering,** v.35, n.4, p. 459-470, 1998.

HIANE, P. A.; BALDASSO, P. A.; MARANGONI, S.; MACEDO, M. L. R. Chemical and nutritional evaluation of kernels of bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. . **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.3, p. 683-689, 2006.

JUSTI, P. N.; **Valorização de frutos do cerrado: Desenvolvimento de tempero em pó de pequi.** 2012. 45 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2012.

KAHN, R., STEHLI, D., WEI, L.S., STEINBERG, M.P., YAMASHITA, N. Activity and mobility of water in sweetened concentrated dislodged soy beverages and their rheological properties. **Journal of Food Science**, v.55, n.2, p.537–542, 1990.

LESCANO, C. H.; **Microencapsulação do Óleo da Bocaiuva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. por coavervação complexa.** 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

LORENZI, G.M.A.C. ***Acrocomia aculeata* (jacq.) Lodd. ex Mart. - Arecaceae: bases para o Extrativismo Sustentável**. 2006. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MARIANO, R. G. B. **Fracionamento e biotransformação de óleos obtidos a partir de frutos do cerrado: macaúba (*Acrocomia aculeata*) e pequi (*Caryocar brasiliense* Camb).** Rio de Janeiro, 2014. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

MELO, M. A. M. F., **Avaliação das propriedades de óleos vegetais visando a produção de biodiesel**, 2010, 114f. Dissertação (Mestrado), Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoal, 2010.

MOTHÉ, M. G. **Estudo do Comportamento de Ligantes Asfálticos por Reologia e Análise Térmica.** 204f. Dissertação (Doutor em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

NUCCI, S. M.; **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba**. 2007. 82f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico, Campinas, 2007.

NUNES, A. A.; **Óleo da Polpa de Macaúba (Acrocomia aculeata (Jacq) Lood. ex Mart.) com Alta Qualidade: Processo de Refino e Termoestabilidade.** 2013. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia, Biotecnologia Aplicada à Saúde, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2013.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; LIMA, C. G.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M.; Uso do óleo de pequi (Caryocar brasiliense) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Cuiabá, v. 44, n. 2, p.249-259, 2008.

RIBEIRO, M. C.; **Óleo de Pequi: Qualidade Físico-Química, teor de carotenóides e uso em animais com carência de vitamina A.** 2010. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nutrição, Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

TEIXEIRA, L. P. **Caracterização física do óleo e grãos de abóbora (Cucurbita moschata) Objetivando a produção de biocombustível.** 2013. 111 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Mecânica, Escola de Engenharia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

ZANATTA, S. **Caracterização da macaúba (casca, polpa e amêndoa) e análise sensorial através da Educação do Gosto**. 2015. 107 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

CAPÍTULO 23

SAÚDE HUMANA: É CORRETO HAVER FISCALIZAÇÃO PARA *Salmonella* spp. E NÃO HAVER PARA *Campylobacter* spp.?

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 08/03/2021

Caroline Stéfani Plank
Centro Universitário Univel
Cascavel – Paraná
http://lattes.cnpq.br/1747660224309344

Thaís Biasuz
Centro Universitário Univel. Universidade Federal da Fronteira Sul
Cascavel – Paraná
http://lattes.cnpq.br/1797786044951848

RESUMO: A salmonelose e campilobacteriose são zoonoses globais, podendo estas infecções assemelhar-se entre si. A salmonelose é a zoonose com maior proliferação mundial, podendo resultar em bacteremia, quadros diarreicos, infecções no sistema nervoso central e em outros sítios, como no baço e trato genital, sendo estas complicações relacionadas majoritariamente aos pacientes imunocomprometidos. As campilobacterioses são geralmente autolimitantes, podendo causar febre, dores abdominais, mialgia, dentre outros sintomas. Em pacientes imunodeprimidos, entretanto, a *C. jejuni* pode causar: colite aguda, hepatite, Síndrome de Guillain Barré (GBS) e outras patologias, sendo que esta síndrome apresenta como causa mais comum o *Campylobacter* spp. Em pacientes portadores de HIV, pode causar bacteremia, artrite, peritonite e aborto, por exemplo. Pode haver, porém, casos assintomáticos, assim como a salmonelose, sendo assim mais dificilmente notificadas, sendo extremamente importantes para a saúde pública. Finalmente, infecção por *Campylobacter* spp., bem como por *Salmonella* spp., é uma zoonose de distribuição mundial, contudo, por conta do baixo índice de notificações de campilobacteriose no Brasil, devido à ocorrência de casos assintomáticos, há uma dificuldade na aplicação de políticas para agregar medidas de controle deste gênero bacteriano, não havendo fiscalização para *Campylobacter* spp., de maneira que seria altamente relevante haver uma maior atenção à esses microrganismos, devido ao potencial de provocar diversos problemas à saúde, sobretudo a dos imunossuprimidos.
PALAVRAS-CHAVE: Campilobacteriose, Salmonelose, Zoonose, Fiscalização, Legislação.

HUMAN HEALTH: IS CORRECT HAVE INSPECTION FOR *Salmonella* spp. WHILE THERE IS NOT FOR *Campylobacter* spp.?

ABSTRACT: Salmonellosis and campylobacteriosis are global zoonoses, these infections can resemble each other. The salmonelllosis is the most proliferated zoonosis worldwide, may resulting in bacteremia, diarrheal conditions, infections in central nervous system and other sites, such as spleen and genital tract, being these complications mostly associated to immunosuppressed patients. The campylobacteriosis is usually self-limiting, may cause fever, abdominal pain, myalgia, among others symptoms. However, in imunodepressed patients, *C. jejuni* can cause: acute colitis, Guillain Barré Syndrome (GBS) and other pathologies,

having the *Camapylobacter* spp as the most common cause to the last disease presented. In patients with HIV, it may cause bacteremia, arthritis, peritonitis and abortion for example. Although, may there be asymptomatic cases, as salmonellosis, therefore, presenting more difficult to be reported, being extremely important for public health. Finally, infection by *Campylobacter* spp., as well as *Salmonella* spp., is a worldwide zoonosis distribution, however, due to the low rate of campylobacteriosis in Brazil, as a result of the occurrences of asymptomatic cases, there is a difficulty in the application of policies to aggregate control measures of this bacterial genus, with no inspection for Campylobacter spp., so it would be highly relevant to pay more attention to these microorganisms, due to the potential to cause several health problems, especially for the immunosuppressed.
KEYWORDS: Campilobacteriois, Salmonelosis, Zoonosis, Inspection, Legislation.

1 I INTRODUÇÃO

A *Salmonella é* um gênero bacteriano, sendo uma das quatro principais causas de doenças diarreicas e o de maior relevância da família *Enterobacteriaceae*. Mesmo a *Salmonella* sp. causando em sua maioria, quadros leves, pode mesmo desenvolver doenças que resultam na morte dos infectados. Sua infecção pode causar salmonelose não tifoide, que é a mais comum e a febre tifoide, que é causada pela *Salmonella entérica*, sorotipo Typhi, que é uma infecção aguda de distribuição mundial, gerando sintomas como febre alta, bradicardia relativa, falta de apetite, dor abdominal, obstipação intestinal e esplenomegalia. (WHO, 2018; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

As bactérias do gênero *Salmonella* são bacilos que não esporulam, gram-negativos geralmente móveis, já que a maioria das espécies possuem flagelos peritríquios. Têm a capacidade de formar ácido e fermentam diversos carboidratos, como maltose, manitol, manose, ramnose, xilose e arabinose, sendo que a maioria das espécies de importância clínica não são fermentadores de lactose, apesar de ser possível a obtenção desta propriedade através de transferência plasmidial. Possuem como temperatura ótima para crescimento cerca de 37°C, podendo sua temperatura para crescimento variar de 5 a 45°C e pH por volta de 4 a 9, com pH ideal de 7 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; MOURA et al., 2007). Além dessas características, são bactérias catalase positiva, oxidase negativa, indol, Vermelho de Metila (VM), melonato, Voges Proskauer (VP), uréia negativa e produtoras de gás sulfídrico por ação da enzima cisteína desulfidrase que reduz o enxofre. Ademais, são aptas a realizar descarboxilação de ornitina e lisina, reduzir nitrato a nitrito e algumas ainda utilizam o citrato como fonte única de carbono, variando de acordo com o sorovar e/ou subespécie (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

As bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter* são agentes de enterocolites humanas, sendo a maioria das camplobacterioses causadas pelas espécies *C. jejuni* e *C. coli*. O gênero bacteriano é formado bacilos espiralados gram-negativos e movem-se por meio de um flagelo que pode corresponder ao dobro ou triplo do comprimento do

espirilo. A morfologia, porém, pode variar segundo o tempo de cultivo, observando-se bactérias similares à “asa de gaivota” e cocoide quando em culturas mais envelhecidas, correspondendo a uma forma não cultivável, estas bactérias não esporulam. Sua obtenção de energia é quimiorganotrófico, por meio de componentes intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico e/ou aminoácidos. Apresentam características metabólicas em comum, como a microaerofilia e capnofilia, multiplicando-se com baixa taxa de oxigênio (sendo 5% a concentração ótima) e presença de CO_2 (próximo de 10%) e majoritariamente redutoras de nitrato e positivas para a enzima citocromo-oxidase. Por outro lado, existem particularidades entre as espécies, sendo possível a diferenciação de espécies semelhantes entre si, como a *C. coli* e *C. lari,* a partir de testes bioquímicos, já que a *C. lari* não tem a capacidade de hidrolisar indoxil acetato, porém cresce na presença de ácido nalidíxico (cerca de 30 µg), diferentemente da *C. coli*. Ademais, as espécies *C. jejuni, C. lari* e *C. coli* são designadas como termófilas, uma vez que seu crescimento ocorre na faixa de temperatura variante entre 30º C e 47º C, sendo a temperatura ótima equivalente a 42º C (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Neste capítulo, será abordada as formas de transmissão, quadro clínico e a importância da fiscalização/legislação, tendo como base a relação entre a campilobacteriose e a salmonelose não tifóide.

2 | FORMAS DE TRANSMISSÃO

A *Salmonella* spp. podem ser transmitida por meio da ingestão de água contaminada pela bactéria, bem como mediante o consumo de alimentos contaminados, podendo ser os alimentos de origem animal ou não. Infecção por *Salmonella* em humanos são relacionadas às espécies *S. enterica* e *S. bongori* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Comumente, a transmissão do gênero *Campylobacter* ocorre através da ingestão de água contaminada, consumo de leite não pasteurizado e alimentos de origem animal contaminados, além de ser também transmitido também pelo contato com fezes de animais contaminados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Cepas de *Campylobacter* presentes na carne de frango podem frequentemente ter ligação com casos de campilobacteriose humana, além disso, tanto o manuseio quanto a preparação e consumo de frango e produtos derivados do mesmo contaminados são tidos como a principal fonte de infecções humanas em países desenvolvidos. A diversidade genotípica entre as cepas, porém, demonstram que existem outras fontes além desta para a infecção em humanos, podendo tanto aves como não aves de fazenda, contribuir para esta doença. Entretanto, a contaminação por meio da ingestão de águas superficiais, leite cru e a criação de aves em granjas representam também fatores de risco para a infecção por C. jejuni em humanos (BRONOWSKI et al., 2014; GÜNTER KLEIN, 2017; KAAKOUSH et. al., 2015; STINGL et al., 2012).

Em regiões como a Escandinávia, são comuns surtos por veiculação hídrica, sendo o *Campylobacter* representante de 29% dos surtos que possui a etiologia conhecida em um período de 15 anos. Ademais nos últimos anos, o leite não ou mal pasteurizado têm sido alguns dos novos reservatórios para a ocorrência de surtos desta bactéria, uma vez que o crescente consumo dos mesmos resultou em um aumento de surtos de campilobacteriose associada ao leite, sobretudo em países desenvolvidos (GUZMAN-HERRADOR et al., 2015, HAURI et al., 2013; GOULD et al., 2013).

3 I QUADROS CLÍNICOS

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, do inglês *World Health Organization*), cerca de 600 milhões, ou seja, quase uma a cada dez pessoas adoecem pela ingestão de alimento contaminado, além disso, o número de mortes causadas pela infecção por alimento contaminado está próximo de 420 mil, tanto por agentes infecciosos, como bactérias, vírus, príons e parasitos, quanto por substâncias químicas. Destacando-se, dentre outras bactérias, as do gênero *Salmonella* e *Campylobacter*, juntamente com a *Escherichia coli* enterohemorrágica, pelo fato de estarem entre os patógenos alimentares mais comuns, afetando milhões de pessoas por ano, podendo, por vezes, resultar em casos graves ou mesmo fatais (WHO, 2020).

A salmonelose é uma infecção gastrointestinal, desenvolvendo febre baixa, vômitos, dores abdominais e diarréias, raramente levando à morte dos infectados (geralmente por ovos crus, aves e carne bovina contaminada). Levando aos sintomas de 12 a 36 horas após a infecção, podendo durar até 72 horas aproximadamente. Infecções pelo gênero *Salmonella* são comuns e em geral, não necessitam de tratamento com antibióticos, já que a mesma dura de dois a três dias (SHINOHARA et al., 2008). Além disso, atualmente, existe grande apreensão devido ao aumento de sorotipos deste gênero resistentes ao tratamento com antibióticos que haviam obtido bons resultados clínicos, porém, têm adquirido a multirresistência (D'AOUST, 1994). Após a ingestão de alimento contaminado, a *Salmonella* spp. atravessa a camada do epitélio intestinal e chegam à lâmina própria para proliferar-se, onde a *Salmonella enterica* sorovar Typhi não é restrita à lâmina, causando a febre tifóide e as outras bactérias deste gênero causadoras de enterocolite, por outro lado, permanecem limitadas à lâmina, raramente causando infecção sistêmica. Com a fagocitose promovida por macrófagos e monócitos, ocorre a hiperatividade do sistema reticuloendotelial, resultando na resposta inflamatória. A diarréia aquosa é provocada pelo aumento da secreção de água e eletrólitos, decorrentes do estímulo de adenilciclase, que por sua vez, foram causadas pela liberação de prostaglandinas (SHINOHARA et al., 2008; HAIMOVICH et al., 2006).

Em decorrência da campilobacteriose, ocorre a colonização da bactéria no íleo e cólon humano pelo *Campylobacter jejuni*, podendo afetar funções do trato gastrointestinal, como a absorção e secreção. Este quadro evolui a campilobacteriose intestinal, que está

relacionada a dor abdominal, febre, mal estar e diarreias aquosas que podem regularmente conter sangue, havendo eritema e hemorragia na mucosa na qual a colônia está instalada. (WASSENAAR et al., 1999; POLY et al., 2008; GÜNTER KLEIN, 2017).

Além das espécies de *Campylobacter* serem capazes de causar infecções associadas a diversas condições gastrointestinais, dentre elas doenças intestinais inflamatórias, esôfago de Barret e o câncer colorretal, além de condições que podem afetar outros órgãos, ou mesmo, todo o organismo, como bacteremia, meningite, abcessos cerebrais, infecções pulmonares e ainda, artrite reativa em alguns casos (KAAKOUSH et al., 2015).

Além disso, mesmo após a recuperação, pode haver sequela em alguns pacientes, tendo o *Campylobacter* a capacidade de danificar até mesmo o sistema nervoso e articulações do paciente, podendo este apresentar patologias, dentre elas: Síndrome de Guillain- Barré, Encefalite de Bickerstaff Síndrome de Miller- Fisher (sistema nervoso); artrite reativa (articulações). Ainda, existe a suspeita/pressuposto que o desenvolvimento de doenças inflamatórias intestinais, tais como a síndrome do intestino irritável, doença de Crohn e colite ulcerativa estão relacionadas às infecções geradas pelo gênero *Campylobacter* spp. (KEITHLIN et al., 2014).

4 | EPIDEMIOLOGIA DAS INFECÇÕES

O gênero *Campylobacter* geralmente causa infecções de maneira esporádica e por isso, dificilmente é investigado como fonte da doença. Por outro lado, estudos têm revelado um crescimento nos surtos de gastroenterite causados por tal bactéria, ao passo que há um decréscimo nos surtos infecciosos causados por outros agentes patogênicos, tais como a *Salmonella*. (GORMLEY et al., 2011).

Alguns alimentos como, carne de frango e derivados foram identificados como fontes de surto de campilobacterioses (SCOTT et al., 2015; FARMER et al., 2012).

No sul do Brasil, uma pesquisa realizou análises em amostras de frango, detectando um total de 70% (35 de 50) das amostras com contaminação por *Campylobacter* termotolerante (POZZA et al. 2020). Já em outro estudo, foi realizada análise utilizando *Pulsed Field Gel Electrophoresis technique* (PFGE), o estudo isolou 58% do *Campilobacter* presente nas fezes de aves (DA SILVA et al., 2016). Estudo realizado no Pará, isolou bactérias deste gênero de aproximadamente 97% de cloaca de aves (CHAVES et al., 2010), ainda em outra pesquisa, em 17 de 20 aviários estudados, correspondendo a 61 das 100 amostras (61%) das fezes de frango analisadas, foram isolados *Campylobacter* sp. Dentre estes aviários, seis foram positivos para *Campylobacter* em todas as amostras (DA SILVA et al., 2014). Em uma fazenda no Rio Grande do Sul, foi encontrada contaminação de 81% das aves (KUANA et al., 2008). Em Santa Catarina, entretanto, um estudo demonstrou que apenas 6,2% da população adulta poderia estar infectada durante o período da pesquisa, apresentando casos assintomáticos de campilobacteriose (TOSIN; MACHADO, 1995). A baixa ocorrência da infecção pode ter ocorrido devido às condições que as amostras

foram mantidas para análise, outra explicação para este caso poderia ser que em países em desenvolvimento, ocorre maior exposição de crianças ao *Campylobacter*, reduzindo o risco de campilobacteriose quando adulto, por conta da produção de anticorpos específicos contra ele (DA SILVA et al., 2016).

Segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* – CDC, a *C. jejuni*, anualmente, alcança cerca de 2,4 milhões de casos, sendo considerada uma das causas mais comuns de enterite bacteriana esporádica, acreditando-se, portanto, que nos Estados Unidos as infecções causadas pela mesma sejam mais freqüentes do que as por *Shigella* e *Salmonella* juntas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Em 2006 na Alemanha, a incidência anual de casos de campilobacteriose foi de 63/100.000, proporcional à cerca de 52.000 casos (44% de todas as infecções intestinais relatadas causadas por bactérias), havendo um aumento anual de aproximadamente 79/100.000, correspondendo cerca de 71.000 (71% das infecções intestinais bacterianas notificadas) novos casos até 2014, na Alemanha, segundo relatório estatístico do Instituto Robert Koch. Todavia, é razoável hipotetizar que tanto na Alemanha, quanto em outros países, o número real de casos de campilobacteriose é consideravelmente maior (STINGL et al., 2012).

Ademais, foi observado um aumento sucessivo no número de surtos de infecção por *Campylobacter* (CRIM et al., 2015; TAM et al., 2012). Os níveis de incidência desta doença representam apenas parte da real soma de infectados, isso ocorre devido ao reduzido/limitado número de notificações de tal infecção (GÜNTER KLEIN, 2017).

Ainda, os casos diarreia resultantes da campilobacteriose foram considerados, por estudos, significativamente subestimados, já que o patógeno foi o mais constantemente detectado entre diversas bactérias causadoras de gastroenterites em crianças (PLATTS-MILLS; KOSEK, 2014).

Além disso, nos Estados Unidos e Reino Unido, a frequência de casos estimados de campilobacteriose são semelhantes à de salmonellose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Evidenciou, que embora o índice de notificações para campilobacteriose não correspondam ao real número de casos de infecções causados por *Campylobacter* sp., por conta de altas quantidades de casos assintomáticos, os números ainda são alarmantes.

No Brasil, é notável que a contaminação de alimentos, sobretudo, de aves, é uma realidade muito relevante, apresentando altos índices de contaminação, por outro lado, não existem muitos estudos focando na epidemiologia da infecção por *Campylobacter* em si, no país. Além disso, em decorrência dos casos assintomáticos causados pela infecção, as notificações para a campilobacteriose são reduzidas.

Esta infecção ainda toma proporções mundiais, tendo em vista que a frequência de doenças geradas pelo *Campylobacter*, nos Estados Unidos, é superior à freqüência somada dos casos por *Shigella* e *Salmonella*.

Além disso, a campilobacteriose pode apresentar sintomatologia, ou até mesmo resultar em quadros clínicos graves em pacientes imunodeficientes, como bacteremia e meningite, além de poder deixar seqüelas nos indivíduos que anteriormente foram infectados por *Campylobacter* sp., ou mesmo resultar na morte do infectado.

Levando em consideração os dados citados, demonstra-se necessidade de fiscalização mais criteriosa para *Campylobacter* spp., sendo, portanto, de extrema importância que este gênero bacteriano também componha a Legislação de Alimentos, para que haja um melhor controle sobre microrganismos patogênicos em alimentos, promovendo, assim, mais segurança aos consumidores.

REFERÊNCIAS

BRONOWSKI, C., JAMES, C.E., WINSTANLEY, C. **Role of environmental survival in transmission of *Campylobacter jejuni*.** FEMS Microbiol. Lett. 356, 8–19. 2014.

CHAVES, S. O. C.; SOUZA, C. O.; FREITAS, J. A.; A, DE J.; DOS SANTOS, DIAS.; DE ARAÚJO, C. V.; R, DA SILVA, R. R. **Ocorrência de *Campylobacter*** em granjas e abatedouro avícola na mesorregião metropolitana de Belém, PA, BR. *Cienc. Anim. Bras.*, v.11, p.554-560, 2010.

CRIM, S.M., GRIFFIN, P.M., TAUXE, R., MARDER, E.P., GILLISS, D., CRONQUIST, A.B., CARTTER, M., TOBIN-D'ANGELO, M., BLYTHE, D., SMITH, K., LATHROP, S., ZANSKY, S., CIESLAK, P.R., DUNN, J., HOLT, K.G., WOLPERT, B., HENAO, O.L. **Preliminary incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food - Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. sites, 2006–2014.** Morb. Mortal. Wkly. Rep. 64, 495–499. 2015.

D'AOUST, J-Y. ***Salmonella*** and the international food trade. International Journal of Food Microbiology**.** Volume 24, Issues 1–2, December 1994, Pages 11-31.

DA SILVA, D. T.; TEJADA, T. S.; BLUM- MENEZES, D. DIAS, P. A. TIMM, C. D. **Campylobacter species isolated from poultry and humans, and their analysis using PFGE in southern Brazil.** International Journal of Food Microbiology Volume 217, 18 January 2016, Pages 189-194.

DA SILVA, D. T.; TEJADA, T. S.; CUNHA, C. C.; LOPES, N. A.; AGOSTINHO, A.; COLLARES, T.; LEON, P. M. M.; TIMM, C. D. **Ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango, fezes de frango e humanas em pesquisa dos genes *cdt*.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.66 no.1 Belo Horizonte Jan./ Feb. 2014.

FARMER, S., KEENAN, A., VIVANCOS, R. **Food-borne *Campylobacter* outbreak in Liverpool associated with cross-contamination from chicken liver parfait: implications for investigation of similar outbreaks.** Public Health 126, 657–659. 2012.

GOULD, L.H., WALSH, K.A., VIEIRA, A.R., HERMAN, K., WILLIAMS, I.T., HALL, A.J., COLE, D. **Surveillance for foodborne disease outbreaks**. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 62, 1–34. 2013.

GORMLEY, F.J., LITTLE, C.L., RAWAL, N., GILLESPIE, I.A., LEBAIGUE, S., ADAK, G.K. **A 17- year Review of Foodborne outbreaks: describing the continuing decline in England and Wales (1992–2008).** Epidemiol. Infect. 139, 688–699. 2011.

GÜNTER KLEIN. ***Campylobacter* Features, Detection, and Prevention of Foodborne Disease.** Elsevier. 2017.

GUZMAN-HERRADOR, B., CARLANDER, A., ETHELBERG, S., FREIESLEBEN DE BLASIO, B., KUUSI, M., LUND, V., LÖFDAHL, M., MACDONALD, E., NICHOLS, G., SCHÖNNING, C., SUDRE, B., TRÖNNBERG, L., VOLD, L., SEMENZA, J.C., NYGÅRD, K. **Waterborne outbreaks in the Nordic countries.** Euro Surveill. 2015.

HAIMOVICH, B.; VENKATESA, M.M. ***Shigella* e *Salmonella*: death as a means of survival**. Microbes and Infection 2006.

HAURI, A.M., JUST, M., MCFARLAND, S., SCHWEIGMANN, A., SCHLEZ, K., KRAHN, J. **Campylobacteriosis outbreaks in the state of Hesse, Germany.** Dtsch. Med. Wochenschr. 138, 357–361. 2013.

KAAKOUSH, N.O., CASTANO-RODRIGUEZ, N., MITCHELL, H.M., MAN, S.M. **Global epidemiology of *Campylobacter* infection.** Clin. Microbiol. Rev. 28, 687–720. 2015.

KUANA, S. L., DOS SANTOS, L. R., RODRIGUES, L. B., SALLE, C. T. P., MORAES, H. L. DE S., & DO NASCIMENTO, V. P. **Ocorrência de *Campylobacter* em lotes de frangos de corte e nas carcaças correspondentes.** Cienc. Anim. Bras., v.9, p.480-486, 2008.

KEITHLIN, J., SARGEANT, J., THOMAS, M.K., FAZI, A. **Systematic review and meta-analysis of the proportion of *Campylobacter* cases that develop chronic sequelae**. BMC Public Health 14, 1203. 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual Integrado de Vigilância e Controle de Febre Tifóide.** Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília – DF. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp.** Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília- DF. 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial de *Campylobacter*.** Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília- DF. 2011.

MOURA, A. M. G.; **Avaliação da eficácia de bacterinas comerciais no controle da infecção por *Salmonella* Enteritidis em galinhas de postura comercial.** UNESP UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CÂMPUS DE JABOTICABAL, 2007.

PLATTS-MILLS, J.A., KOSEK, M. **Update on the burden of *Campylobacter* in developing countries.** Curr. Opin. Infect. Dis. 27, 444–450. 2014.

POLY, F., GUERRY, P. **Pathogenesis of *Campylobacter***. Curr. Opin. Gastroenterol. 24, 27–31. 2008.

POZZA, J. DOS S.; VOSS- RECH, D.; LOPES, L. DOS SANTOS.; VAZ, C. S. L. **Research Note: A baseline survey of thermotolerantCampylobacter in retail chicken in southern Brazil**. 2020 Poultry Science 99:2690–2695.

SCOTT, M.K., GEISSLER, A., POISSANT, T., DEBESS, E., MELIUS, B., ECKMANN, K., SALEHI, E., CIESLAK, P.R. **Notes from the field: campylobacteriosis outbreak associated with consuming undercooked chicken liver pâté - Ohio and Oregon, December 2013–January 2014**. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 64, 399. 2015.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. DE C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. DE L. ***Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos.** Ciênc. saúde coletiva vol.13 no.5 Rio de Janeiro Sept./Oct. 2008.

STINGL, K., KNÜVER, M.T., VOGT, P., BUHLER, C., KRÜGER, N.J., TENHAGEN, B.A., HARTUNG, M., SCHROETER, A., ELLERBROEK, L., APPEL, B., KÄSBOHRER, A. **Quo vadis? Monitoring *Campylobacter* in Germany.** Eur. J. Microbiol. Immunol. 2, 88–96. 2012.

TAM, C.C., RODRIGUES, L.C., VIVIANI, L., DODDS, J.P., EVANS, M.R., HUNTER, P.R., GRAY, J.J.,LETLEY, L.H., RAIT, G., TOMPKINS, D.S., O'BRIEN, S.J. **Longitudinal study of infectious intestinal disease in the UK: incidence in the community and presenting to general practice.** Gut 61, 69–77. 2012.

TOSIN, I.; MACHADO, R.A. **Ocorrência de *Campylobacter* spp entre manipuladores de alimentos em cozinhas hospitalares de localidade urbana da Região Sul do Brasil.** Rev. Saúde Públ., v.29, p.472-477, 1995.

WASSENAAR, T. M.; BLASER, M. J. **Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. Microbes Infect**. 1, 1023–1033. 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food safety.** 2020. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety

WORLD HEALTH ORGANIZATION. ***Salmonella* (non- typhoidal)**. 2018. Disponível em: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal).

CAPÍTULO 24

SIMULAÇÃO DO FRACIONAMENTO DE SUBPRODUTO DO REFINO DO ÓLEO DE SOJA

Data de aceite: 03/05/2021
Data de submissão: 26/03/2021

Elinéia Castro Costa
Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Colegiado de Engenharia Química (COENQUI) Macapá - Amapá
http://lattes.cnpq.br/9685402675283869

Nélio Teixeira Machado
Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto de Tecnologia (ITEC), Laboratório de Processos de Separação e Termodinâmica Aplicada (TERMA) Belém - Pará
http://lattes.cnpq.br/5698208558551065

Marilena Emmi Araujo
Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto de Tecnologia (ITEC), Laboratório de Processos de Separação e Termodinâmica Aplicada (TERMA) Belém - Pará
http://lattes.cnpq.br/8983914018546682

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi aplicar o simulador Aspen Hysys 8.6 para descrever o processo de fracionamento do destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) em colunas em contracorrente em múltiplos estágios, utilizando CO_2 supercrítico como solvente, com condições operacionais a 70°C, a pressões de 260 e 350 bar, e S/F de 3 e 32. A composição do DDOS foi baseada em dados da literatura consistindo do sistema complexo: ácido palmítico, ácido oleico, ácido linoleico, α-tocoferol, esqualeno e estigmasterol. As propriedades termofísicas de cada um dos compostos foram preditas empregando métodos de contribuição de grupos. Foi utilizada a equação de Soave-Redlich-Kwong para descrever as condições de equilíbrio de fases. O fluxograma do processo consiste de uma coluna de multiestágios, que representa o extrator supercrítico, e quatro tanques flash, para a separação do CO_2 dos produtos de topo e fundo e para a separação da corrente de subprodutos. Foram utilizados os seguintes dispositivos auxiliares: válvulas de expansão, trocadores de calor e compressores relacionados ao reciclo do CO_2. Os resultados das simulações indicam a possiblidade de obtenção de extratos com diferentes teores de constituintes de produtos naturais de alto valor agregado. Dentre os resultados destaca-se a simulação com uma coluna com 10 estágios a 350 bar e S/F=3, com um produto de topo após a separação flash do CO_2 contendo o maior teor de ácido linoleico 78,39%, acompanhado de 9,8% de ácido oleico, 2% de α-tocoferol, 3,4% de esqualeno e com baixos teores de estigmasterol, 0,5%.

PALAVRAS-CHAVE: Soja, DDOS, fracionamento, simulação, CO_2 supercrítico

SIMULATION OF SOYBEAN OIL REFINING BY-PRODUCT FRACTIONATION

ABSTRACT: The purpose of this work was to apply the simulator Aspen Hysys 8.6 to describe the fractionation of soybean oil deodorizer distillates (SODD) in multistage countercurrent columns using supercritical CO_2 as solvente at 70°C and 260 e 350 bar, and S/F=3, 32.

The composition of DDOS was based on data from the literature consisting of the complex system: palmitic acid, oleic acid, linoleic acid, α-tocopherol, squalene and stigmasterol. The thermophysical properties of each of the compounds were predicted using group contribution methods. The Soave-Redlich-Kwong equation was used to describe the phase equilibrium conditions. The process flowchart consists of a multistage column, which represents the supercritical extractor, and four flash tanks, for the separation of CO_2 from the top and bottom products and for the separation of the by-product stream. The following auxiliary devices were used: expansion valves, heat exchangers and compressors related to CO_2 recycling. The results of the simulations indicate the possibility of obtaining extracts with different levels of constituents of natural products with high added value. Among the results, we highlight the simulation with a 10 stages column at 350 bar and S/F=3, with a top product after the flash separation of CO_2 containing the highest content of linoleic acid 78.39%, accompanied by 9.8% of oleic acid, 2% α-tocopherol, 3.4% squalene and with low levels of stigmasterol, 0.5%.
KEYWORDS: Soybean, SODD, fractionation, simulation, supercritical CO_2.

1 I INTRODUÇÃO

A desacidificação e a desodorização são importantes etapas do processo de refino físico de óleos vegetais. O processo de desodorização industrial aplica o esgotamento com vapor do óleo vegetal produzindo um subproduto no topo da coluna de destilação com alto valor agregado, denominado destilado da desodorização (DD). Os DD são constituídos predominantemente de ácidos graxos livres, tocoferóis, esteróis e esqualeno. Nestes processos a temperatura do sistema chega em torno de 200°C a pressões de 3 mbar.

A separação com fluidos supercríticos são um grupo de processos de separação o qual aplica um fluido no estado supercrítico como agente de separação da mesma forma que outros processos de separação, como a extração liquido-liquido ou absorção. No processo de separação em contracorrente, o composto ou componente se distribui entre o solvente (fase extrato) e o líquido (fase rafinado), onde flui em contracorrente através do equipamento de separação. Dentre as vantagens da operação em contracorrente para uma separação estão: a redução da quantidade de solvente necessária e possibilidade da obtenção de altas concentrações de extrato no solvente e baixa concentração residual no rafinado, em comparação com o processo em um único estágio (Brunner, 2009; Brunner e Machado, 2012).

A tecnologia supercrítica, empregando CO_2 como solvente, em colunas de multiestágios em contracorrente, apresenta-se como um processo de separação importante para o fracionamento de destilados da desodorização, evitando a degradação dos compostos termosensíveis, onde a temperatura do processo de fracionamento é definida pela temperatura crítica do solvente, que para o CO_2 é de 31°C, assim a altas pressões e temperatura em torno de 65°C ocorre o fracionamento (Brunner, 2009).

Os simuladores de processos comerciais, como o Aspen Hysys, apresentam-se como a opção, para estudos de viabilidade econômica destes processos, pois podem

reproduzir os processos industriais baseados nos modelos rigorosos de transferência de massa e de equilíbrio de fases que descrevem os diversos equipamentos relacionados aos processos de separação, contribuindo para diminuir o número de medidas experimentais em plantas piloto, que são de custo elevado.

O processo de fracionamento do destilado da desodorização do óleo de palma (DDOP ou PFAD) foi investigado por Brunner e Machado (2012) em uma coluna empacotada (17,5 mm de diâmetro e 7000 mm de altura) em contracorrente, empregando CO_2 supercrítico como solvente, a pressões entre 260 e 290 bar e temperatura de 373 K. A análise da separação foi baseada nos dados experimentais de equilíbrio de fases (seletividade) e de hidrodinâmica (densidade das fases coexistentes líquido-gas e capacidade hidráulica da coluna) a fim otimizar os parâmetros para as melhores condições de operação da coluna. Os dados do processo, razão solvente/alimentação (S/F), razão de refluxo e composição das correntes de alimentação e produtos assim como os dados de equilíbrio do sistema multicomponente (ácidos palmítico, oleico, linoleico e α-tocoferol) foram utilizados para o cálculo do número de estágios. Os resultados mostraram que o ácido palmítico foi enriquecido do teor inicial de 52,51% na alimentação para 74,39% no extrato, enquanto os ácidos oleico+linoleico foram enriquecidos de 46,27% na alimentação para 59,0% no rafinado, demonstrando que a extração supercrítica em contracorrente, usando CO_2 como solvente, é viável para o fracionamento e enriquecimento de ácidos graxos do PFAD.

O CO_2 supercrítico foi aplicado por Fornari et al. (2008) para fracionar o óleo de oliva, o destilado da desodorização do óleo de girassol, e um subproduto obtido após destilação, esterificação e transesterificação do destilado da desodorização do óleo de oliva visando investigar o comportamento de alguns parâmetros como a desacidificação e a recuperação de compostos presentes em menores porcentagens (esqualeno, tocoferóis e fitosteróis). Foi empregada uma coluna empacotada com altura de 3000 mm, construída em aço inoxidável, preenchida com anéis Fenske. Para o processo de desacidificação, as extrações foram realizadas na temperatura de 40°C, pressões de 180, 234 e 250 bar e razão mássica solvente/alimentação (S/F) igual a 20. Dentre os resultados obtidos destaca-se a produção de um rafinado com uma alta concentração de esqualeno a partir do destilado esterificado da desodorização do óleo de oliva, chegando a 90% em massa. Estes processos foram simulados pelos autores utilizando um programa computacional acadêmico desenvolvido em FORTRAN. O programa utiliza como pacote termodinâmico, para descrever o equilíbrio de fases, o modelo (equação de estado) preditivo de contribuição de grupos CG-EOS. Segundo os autores, as simulações reproduziram o comportamento dos experimentos em coluna em contracorrentes para os diferentes sistemas (Fornari et al., 2008; Vázquez et al., 2009).

Este trabalho teve como objetivo descrever uma metodologia para o projeto do processo de fracionamento do destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) em colunas em contracorrente em múltiplos estágios, utilizando CO_2 supercrítico como

solvente, empregando o simulador Aspen Hysys (ASPEN ONE, 2006) com condições operacionais iniciais entre 200 e 300 bar e 70°C, a fim de determinar parâmetros importantes para a otimização do processo, dentre eles razão mássica solvente/alimentação (S/F) nas condições operacionais, composição dos produtos, perfil de concentração, temperatura e pressão ao longo da coluna e fator de separação.

2 l MÉTODOS E PROCEDIMENTOS

O projeto de fracionamento do destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), empregando o CO_2 como solvente, simulado neste trabalho, está baseado na composição do DDOS e nas condições utilizadas por Araujo et al. (2001), para a simulação termodinâmica da separação em um único estágio, através da predição do coeficiente de distribuição ($K_i=y_i/x_i$) da mistura multicomponente, definindo quais os componentes possuem maior ou menor tendência de se enriquecer na fase vapor ou líquida. Quando $K_i > 1$, o componente é enriquecido preferencialmente no extrato e para $K_i < 1$ no rafinado (Machado, 1998). Os autores utilizaram para a simulação da separação, a predição do equilíbrio de fases do sistema multicomponente DDOS/CO_2, empregando a equação de estado de Peng-Robinson, com as regras de mistura de van der Waals com dois parâmetros de interação binária. A matriz de parâmetros de interação, necessárias para a predição do equilíbrio de fases do sistema multicomponente, foi obtida a partir do ajuste de dados experimentais da literatura de equilíbrio dos subsistemas binários entre os constituintes do DDOS e o CO_2, empregando o programa EDEFLASH (Araujo, 1997; Araújo e Meireles, 2001). Foi utilizada a composição de um DDOS produzido no Brasil e, as condições operacionais (P, T) para a análise da separação foram definidas considerando as medidas experimentais de equilíbrio de fases do sistema DDOS/CO_2 publicados por Stold e Brunner (1998).

As condições operacionais iniciais utilizadas nas simulações do fracionamento do destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), desenvolvidos neste trabalho e a composição da alimentação estão apresentadas na Tabela 1.

A elaboração de um fluxograma de processo utilizando o simulador Aspen Hysys (ASPEN ONE, 2006) segue de maneira geral as seguintes etapas: seleção das substâncias que representam a alimentação na base de dados do simulador ou cadastro das substâncias através da fórmula molecular, massa molar, densidade e de suas propriedades termofísicas, utilizando a opção “componentes hipotéticos”; seleção do pacote termodinâmico para calcular as propriedades de mistura (densidade das fases, entalpias) e o equilíbrio de fases do sistema multicomponente nas diferentes correntes; seleção dos equipamentos para representar a operação unitária; seleção dos dispositivos auxiliares (compressores, trocadores de calor, etc.) e, especificações das condições operacionais e composição das correntes de alimentação.

O pacote termodinâmico selecionado para calcular o equilíbrio das fases coexistentes e de outras propriedades de mistura, do sistema multicomponente DDOS/CO2 supercrítico, nas diferentes etapas do processo simulado neste trabalho, foi a equação de estado Soave-Redlich-Kwong com as regras de mistura Redlich-Kwong-Aspen, com dois parâmetros de interação binária K_{ij} e l_{ij} (independentes da temperatura), através da opção de interface do simulador Aspen Hysys com o programa Aspen Properties, pertencente também ao pacote ASPEN ONE 2006.

O simulador Aspen Hysys não possui uma base de parâmetros de interação binária para as equações de estado, dos sistemas binários envolvendo constituintes de óleos vegetais com dióxido de carbono. Assim, visando estabelecer uma base de dados de parâmetros de interação binária entre diversos componentes dos óleos vegetais e seus subprodutos em CO_2, dados experimentais de equilíbrio entre a fase líquida e a fase gasosa dos sistemas binários foram correlacionados previamente, empregando com as equações de Soave-Redlich-Kwong (SRK) e de Peng-Robinson (PR) combinadas com diferentes regras de mistura (Vargens, 2011). Na Tabela 2 são apresentados os valores das propriedades termofísicas dos compostos puros e os parâmetros de interação binária utilizados neste trabalho.

Simulações 1 e 2		Simulações 3 e 4	
Alimentação (F)=100 kg/h P= 260 bar T= 70°C Composição ac. oleico= 14,67% ac. linoleico= 36,43% ac. palmítico= 17,36% a-tocoferol= 8,95% esqualeno= 4,63% estigmasterol= 17,96%	S/F=3 S/F=32 Número de estágios = 10	Alimentação (F)=100 kg/h P= 350 bar T= 70°C Composição ac. oleico= 14,67% ac. linoleico= 36,43% ac. palmítico= 17,36% a-tocoferol= 8,95% esqualeno= 4,63% estigmasterol= 17,96%	S/F=3 S/F=32 Número de Estágios = 10

Tabela 1 - Condições operacionais iniciais das simulações

Substância	**M (g/mol)**	**Tb (K)**	**T_c (K)**	**P_c (bar)**	**ω (-)**	**K_{ij}**	**l_{ij}**
Ácido Oleico	282,47	632,05	796,34[a]	12,42[a]	0,9245[d]	0,10445	0,03994
Acido Linoleico	280,45	627,05	796,03[a]	12,40[a]	0,7767[d]	0,05612	0,01452
Ácido Palmítico	256,43	624,15	780,38[a]	14,67[b]	1,0104[c]	0,14990	0,04700
a-tocoferol	430,69	725,25	897,04[a]	8,20[a]	1,368[e]	0,10658	0,05496
Estigmasterol	412,00	665,05	848,84[a]	9,21[a]	1,0549[e]	0,23402	0,00522
Esqualeno	410,73	674,35	838,06[a]	6,53[a]	1,3985[e]	0,07276	0,10706

Tabela 2 - Propriedades termofísicas dos componentes puros e parâmetros de interação

Os fluxogramas do processo de fracionamento de correntes líquidas em colunas em contracorrente, empregando o dióxido de carbono como solvente, foram implantados no Aspen Hysys selecionando o equipamento denominado “Absorvedor”, ou seja, uma coluna de absorção para representar a coluna em contracorrente. O procedimento de calculo dos balanços de massa e energia dos simuladores de processo para todas as operações unitárias, é o método rigoroso conhecido como MESH:

- **M** equações – balanço **M**aterial para cada componente (C equações para cada estágio)

- **E** equações – relação de **E**quilíbrio para cada componente baseado nos k_i=coeficiente de distribuição (C equações para cada estágio)

- **S** equações – **S**oma das frações molares (uma para cada estágio)

- **H** equações – balanço de energia (**H=**entalpia) (uma para cada estágio)

O projeto do processo completo consiste de uma coluna de absorção de multiestágios em contracorrente com 10 estágios, que representa o extrator supercrítico, e quatro vasos flash, para a separação do CO_2 dos produtos de topo (extrato) e fundo (rafinado) e para a separação de correntes de subprodutos do CO_2. Foram utilizados os seguintes dispositivos auxiliares: válvulas de expansão, trocadores de calor e compressores para as etapas relacionadas ao reciclo do CO_2. O fluxograma do processo implantado no Aspen Hysys está apresentado na Figura 1.

Foram utilizados para interpretação dos resultados das simulações, os parâmetros de processo (em base livre de CO_2) descritos na literatura, para interpretação de experimentos em colunas em contracorrente de múltiplos estágios, empregando dióxido de carbono supercrítico como solvente, descritos a seguir:

Teor de óleo solubilizado no solvente (*vapour phase loading*):

$$VPL = \frac{F - R}{Solvente(S)} 1000$$

F= fluxo de alimentação (*g/h*)
R= fluxo de rafinado (*g/h*)
S= fluxo de solvente (make up+reciclo) (*g/h*)

Fator de separação:

$$\alpha(\%) = \frac{\frac{massa\ do\ comp.extrato(E)}{massa\ do\ comp\ (F)}}{\frac{massa\ dos\ outros\ comp\ (E)}{massa\ dos\ outros\ comp\ (F)}}$$

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

A configuração do fluxograma obtido para descrever o processo de fracionamento do DDOS empregando CO_2 supercrítico como solvente, para as diferentes condições operacionais descritas na Tabela 1, está apresentada na Figura 1. Foi incluído no fluxograma o processo de separação do solvente (CO_2) por despressurização das correntes de extrato e rafinado empregando um conjunto de vasos flash. Na etapa de reciclo de solvente foi necessária a implantação de duas configurações a fim de obter uma maior recuperação do dióxido de carbono, denominadas Planta com reciclo A e Planta com reciclo B (Figuras 2 e 3).

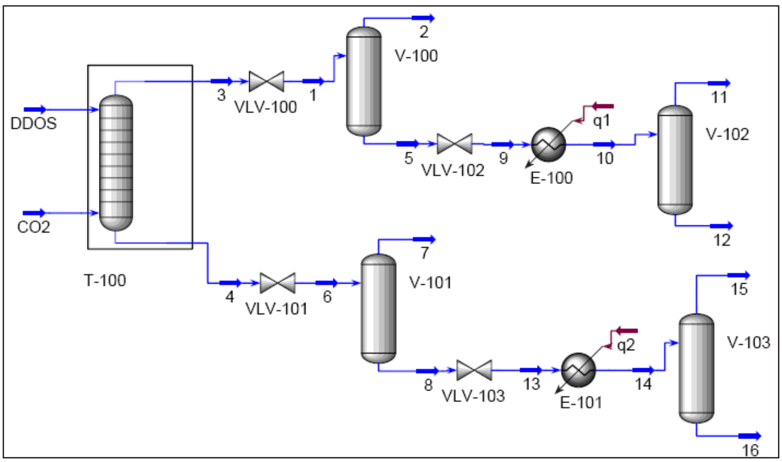


Figura 1 - Fluxograma do processo de fracionamento do DDOS para as simulações 1 a 4

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados da simulação 4 para a relação S/F=3, do processo de fracionamento do destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) em coluna contracorrente, empregando o Aspen Hysys. Foram realizadas simulações para outras relações S/F (5, 8, 10, 20) as quais não apresentaram diferenças significativas dos resultados apresentados neste trabalho.

Nas Tabelas 4 e 5 estão apresentados os resultados da etapa de separação do solvente (CO_2), para a simulação 4, com as plantas com reciclo de CO_2 A e B. Estas tabelas foram utilizadas na determinação dos parâmetros para a análise das simulações (em base livre de CO_2), conforme equações apresentadas no item 3.

Na Tabela 6 estão apresentadas as condições operacionais e as relações S/F utilizadas, como também os resultados dos balanços de massa e os parâmetros utilizados para a interpretação do processo de separação, para todas as simulações.

As simulações do processo de fracionamento do DDOS empregando CO_2 supercrítico, em uma coluna de 10 estágios sugerem que os ácidos graxos e o esqualeno

apresentam a tendência de se deslocar para fase leve (extrato) e que os compostos tocoferol e estigmasterol para fase pesada (rafinado). Estes resultados estão de acordo com os valores experimentais do coeficiente de distribuição obtidos por Stold e Brunner (1998), utilizando diferentes composições para o DDOS (TS1 e TS2) e também reproduzido através das simulações termodinâmicas desenvolvidas por Araújo et al. (2001), para a mesma composição do DDOS utilizada neste trabalho (TCRR), ou seja, para o esqualeno houve o aumento da tendência de se deslocar para a fase vapor com o aumento da pressão e que os componentes pesados α-tocoferol e estigmasterol permaneceram na fase líquida para toda a faixa de pressão enquanto que os ácidos graxos com valores de coeficiente de distribuição próximo de 1, aumentando levemente com o incremento da pressão e que o ácido linoleico possui a maior tendência de se deslocar para a fase vapor.

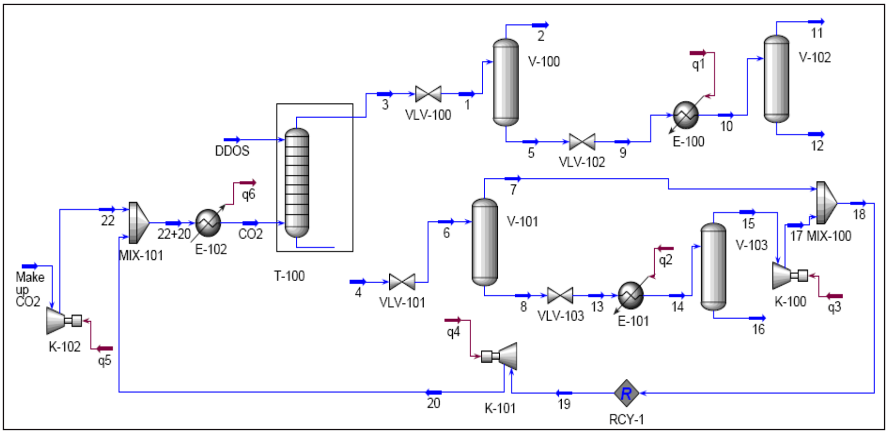


Figura 2 - Fluxograma do processo de fracionamento do DDOS (com reciclo de CO_2) para as simulações 1 a 4 (PLANTA com reciclo A)

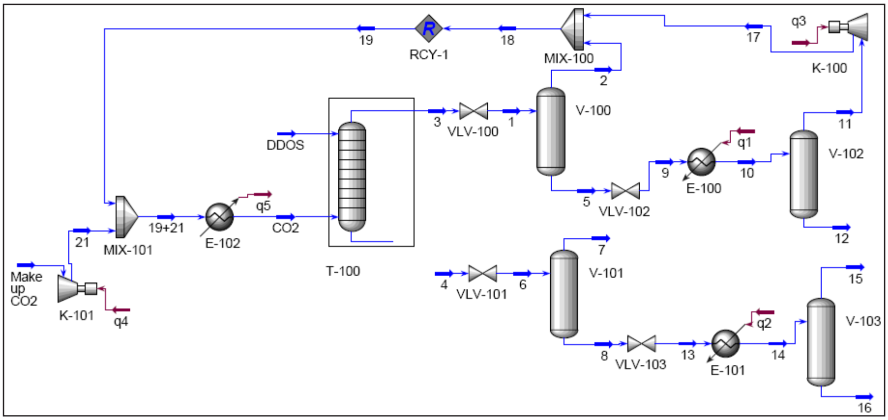


Figura 3 - Fluxograma do processo de fracionamento do DDOS (com reciclo de CO_2) para a simulação 4 (PLANTA com reciclo B)

As simulações do fracionamento do DDOS com o Aspen Hysys, para as condições de pressão, temperatura, composição, relação S/F e número de estágios (10) produziram correntes de saída (misturas) com composições bem diferentes, com destaque para as simulações 2 e 4. A 350 bar e S/F=3 a simulação 4 (planta com reciclo A) conduziu aos seguintes resultados: de 100 kg de alimentação foi obtido 9,37 kg com 78,39% de ácido linoleico, acompanhado de 9,8% de acido oleico, 2% de a-tocoferol, 3,4% de esqualeno e somente 0,5% de estigmasterol. Os resultados da simulação 2 a 260 bar e S/F=3 apresentaram uma corrente de 1,76 kg de ácido linoleico a 68,5%, acompanhado de 11% de ácido oleico, 11% de ácido palmítico, 2% de a-tocoferol, 4,4% de esqualeno e 2,4% de estigmasterol.

Extrator SC					
	Correntes de Alimentação			**Correntes de Produtos**	
	DDOS	**CO_2**		**Extrato (3)**	**Rafinado (4)**
T(°C)	70	70	T(°C)	67,83	62,06
P(kPa)	35000	35000	P(kPa)	35000	35000
Vazão (kg/h)	100	300	Vazão (kg/h)	253,2	146,8
Substância (fração mássica)			**Substância (fração mássica)**		
CO_2	0,0	1,00	CO_2	0,95297	0,40006
Ac. Oleico	0,1467	0,0	Ac. Oleico	0,00460	0,09197
Ac. Linoleico	0,3643	0,0	Ac. Linoleico	0,03686	0,18453
Ac. Palmitico	0,1736	0,0	Ac. Palmitico	0,00278	0,11344
a-Tocoferol	0,0895	0,0	a-Tocoferol	0,00095	0,05930
Esqualeno	0,0463	0,0	Esqualeno	0,00159	0,02878
Estigmasterol	0,1796	0,0	Estigmasterol	0,00023	0,12191

Tabela 3 – Fracionamento do DDOS (simulação 4)

Vaso FLASH (V-102)				
	Corrente (10)		**Corrente (11)**	**(12)**
T (°C)	60	T (°C)	60	60
P(kPa)	150	P (kPa)	150	150
Vazão (kg/h)	147,8	Vazão (kg/h)	135,8	11,95
		Substância (fração mássica)		
		CO_2	1,0	0,00411
		Ác.Oleico	0,0	0,09748
		Ac. Linoleico	0,0	0,78068
		Ác. Palmitico	0,0	0,05880

	a-Tocoferol	0,0	0,02022
	Esqualeno	0,0	0,03381
	Estigmasterol	0,0	0,00489

Tabela 4 – Recuperação do CO_2 para a simulação 4 (planta com reciclo A)

Vaso FLASH (V-103)				
	Corrente (14)		**Corrente (15)**	**(16)**
T (°C)	60	T (°C)	60	60
P(kPa)	150	P (kPa)	150	150
Vazão (kg/h)	101,8	Vazão (kg/h)	13,38	88,42
		Substância (fração mássica)		
		CO_2	1,0	0,00368
		Ác.Oleico	0,0	0,15273
		Ac. Linoleico	0,0	0,30646
		Ác. Palmitico	0,0	0,18838
		a-Tocoferol	0,0	0,09849
		Esqualeno	0,0	0,04779

Tabela 5 - Recuperação do CO_2 para a simulação 4 (planta com reciclo B)

Fluxo (kg/h)	Simulação 1	Simulação 2	Simulação 3	Simulação 4
P (bar)	260	260	350	350
T (°C)	70	70	70	70
Alimentação (F)	100	100	100	100
Solvente (S)	3200	300	3200	300
Produto de Topo (E)	423,1	39,85	132,3	253,2
Produto de Fundo (R)	2877	360,2	3168	146,8
E* (base livre)	23,1	2,576	2,863	11,95
R* (base livre)	77,27	97,80	97,50	88,42
E(%) (ac. Linoléico)	47,90	68,49	40,44	78,39
Estigmasterol no Refinado (%)	19,52	18,37	17,59	17,97
Ac. linoleico no Extrato* (kg/h)	11,06	1,76	1,16	9,37
Estigmasterol no Refinado* (kg/h)	14,19	18,37	17,59	17,97
Fator de separação (ac. Linoleico)	1,604	3,79	1,19	6,34
VPL (g de DDOS/kg CO_2)	7,19	8,55	0,90	39,36

*base livre de solvente

Tabela 6 - Parâmetros do Processo de Fracionamento do DDOS

4 I CONCLUSÕES

Neste trabalho estudou-se o processo de fracionamento do destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) com o simulador de processos Aspen Hysys, empregando o procedimento rigoroso MESH para o cálculo dos balanços de massa e energia. A equação de estado SRK com as regras de mistura Redlich-Kwong-Aspen, com dois parâmetros de interação binária, foi utilizada como o pacote termodinâmico para o cálculo do equilíbrio de fases a altas pressões e quase todas as propriedades necessárias para o balanço de energia.

Os resultados das simulações estão de acordo com os valores experimentais do coeficiente de distribuição obtidos por Stold e Brunner (1998), utilizando diferentes composições para o DDOS (TS1 e TS2) os quais foram reproduzidos através das simulações termodinâmicas desenvolvidas por Araújo et al. (2001), para a mesma composição do DDOS utilizada neste trabalho (TCRR).

A metodologia aplicada neste trabalho, empregando o simulador Aspen Hysys, para o processo de fracionamento do DDOS apresentou resultados que indicam a possibilidade de obtenção de extratos com diferentes teores de constituintes de produtos naturais de alto valor agregado necessário para diferentes aplicações industriais.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, M. E. **Estudo do Equilíbrio de Fases para Sistemas Óleo Vegetal / Dióxido de Carbono Empregando a Equação de Peng-Robinson.** *Tese (*Doutorado em Engenharia de Alimentos*)* – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 1997.

ARAÚJO, M.E.; MACHADO, N.T.; MEIRELES, M.A.A. Modeling of Soybean Oil Deodorizer Distillates + Supercritical Carbon Dioxide using the Peng-Robinson EOS. **Industrial & Engineering Chemistry Research** v. 40, p. 1239-1243, 2001.

ARAÚJO, M.E.; MEIRELES, M.A.A. EDEflash – Computer Program for Thermodynamic Modelling of Multicomponent Systems. **ChemistryPreprintServer (CPS)/chemeng/0107001**, 6 p., 2001.

ASPEN ONE®, 2006. **A sequencial Modular Simulators**, AspenTech, Cambridge, M.A.

BRUNNER, G.; MACHADO, N.T. Process design methodology for fractionation of fatty acids from palm fatty acid distillates in countercurrent packed columns with supercritical CO_2. **The Journal of Supercritical Fluids**. v. 66 p. 96-110, 2012.

FORNARI, T.; VÁZQUEZ, L.; TORRES, C.F.; IBÁNEZ, E.; SENÕRÁNS, F.J.; REGLERO, G. Countercurrent Supercritical Fluid Extraction of Different Lipid-type Materials: Experimental and Thermodynamic Modeling**. The Journal of Supercritical Fluids,** v. 45, p. 206-212, 2008.

MACHADO, N.T. **Fractionation of PFAD-Compounds in Countercurrent Columns using Supercritical Carbon Dioxide as Solvent.** Doctoral Thesis, Technische Universität Hamburg-Harburg, Hamburg, Germany, 1998.

STOLDT, J.; BRUNNER, G. Phase Equilibrium Measurements in Complex Systems of Fats, Fat Compounds and Supercritical Carbon Dioxide**. Fluid Phase Equilibria**, v. 146, p. 269-295, 1998.

VARGENS, H.S. **Modelagem e simulação do fracionamento de correntes líquidas de produtos naturais em colunas em contracorrente usando dióxido de carbono supercrítico**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), PPGEQ, Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

VÁSQUEZ, L.; BENAVIDES-HURTADO, A.M.; REGLERO, G.; FORNARI, T.; IBÁNEZ, E.; SENORANS, F.J. Deacidification of Olive Oil by Countercurrent Supercritical Carbon Dioxide Extraction: Experimental and Thermodynamic Modeling**. Journal of Food Engineering**, v.90, p.463-470, 2009.

SOBRE AS ORGANIZADORAS

VANESSA BORDIN VIERA - Docente adjunta na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), bacharel e licenciada em Nutrição pelo Centro Universitário Franciscano (UNIFRA). Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Docente no Instituto Federal do Amapá (IFAP). Editora da subárea de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Journal of bioenergy and food science. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de antioxidantes, desenvolvimento de novos produtos, análise sensorial e utilização de tecnologia limpas.

NATIÉLI PIOVESAN - Docente no Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN), graduada em Química Industrial e Tecnologia em Alimentos, pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Possui graduação no Programa Especial de Formação de Professores para a Educação Profissional. Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Atua principalmente com o desenvolvimento de pesquisas na área de Antioxidantes Naturais, Qualidade de Alimentos e Utilização de Tecnologias limpas.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Alimento(s) 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 29, 31, 32, 33, 34, 36, 39, 42, 43, 47, 48, 49, 51, 52, 57, 59, 60, 63, 64, 70, 74, 75, 76, 78, 80, 81, 82, 84, 92, 95, 96, 100, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 110, 111, 112, 115, 116, 118, 124, 126, 127, 128, 129, 132, 133, 134, 137, 139, 153, 159, 191, 194, 198, 200, 201, 202, 203, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 213, 214, 216, 218, 220, 231, 232, 236, 237, 238, 239, 240, 242, 253, 255

Amiloglicosidase 138, 140, 141, 144, 146, 147

Antioxidante 84, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 94

APPCC 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8

Atividade Antimicrobiana 133, 134, 136, 137

B

Bacillus 138, 139, 140, 142, 148, 149, 150, 151

Biologia Molecular 19, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 84, 180

C

Carga de Suporte 153

Carne Bovina 95, 97, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 237

Carne Mecanicamente Separada 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116

Castanhas 75, 81

Checklist 95, 96, 97, 98, 99, 101

Ciclomaltodextrina Glicanotransferase 138, 139, 142

Coliformes 95, 97, 98, 99, 100, 101, 106, 107

Conscientização 42, 216

Consumo 1, 3, 7, 10, 11, 14, 17, 18, 48, 58, 59, 74, 75, 76, 79, 81, 82, 85, 92, 96, 110, 114, 128, 131, 170, 173, 174, 206, 207, 209, 215, 218, 236, 237

COVID-19 74, 75, 81, 82

F

Filmes Biopoliméricos 133, 134, 135, 136, 137

Frango 95, 97, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 115, 116, 236, 238, 240

G

Gestão 2, 7, 8, 42, 44, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 107, 132, 208

I

Inquéritos 10

Instrução Normativa 4 110

Invertase 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159

L

Laboratório 36, 97, 127, 133, 142, 153, 207, 243

Leite UAT 19, 22, 32

Líquido Iônico 133, 134

Listeria 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 40, 41, 113

M

Mapa 2, 3, 4, 6, 108, 110, 111, 191, 202

Microbiologia 19, 22, 27, 32, 34, 36, 108, 112, 116, 149, 183

Motivação 42, 43, 51

N

Nanopartículas de Ag 133, 135

Nozes 75, 81, 82

P

Pasta Vegetal 75

Patógeno Alimentar 35

Peixe 17, 127, 130, 131, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 181, 182

Percepção Social 10

Planejamento Experimental 138, 140

Plantas Condimentares 35

Q

Questionários 9, 10, 12, 13

R

Rotulagem Nutricional 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 83

S

Saccharomyces cerevisiae 153, 154, 159

Salmonella 29, 31, 32, 33, 41, 95, 96, 97, 98, 100, 101, 107, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 180, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242

Segurança 1, 8, 18, 82

Segurança Alimentar 18, 35, 36, 47, 48, 82, 96, 115, 201, 203, 209

T

Tecnologia 9, 42, 51, 74, 92, 115, 116, 127, 128, 132, 153, 159, 160, 172, 194, 198, 200, 208, 231, 232, 243, 244, 255

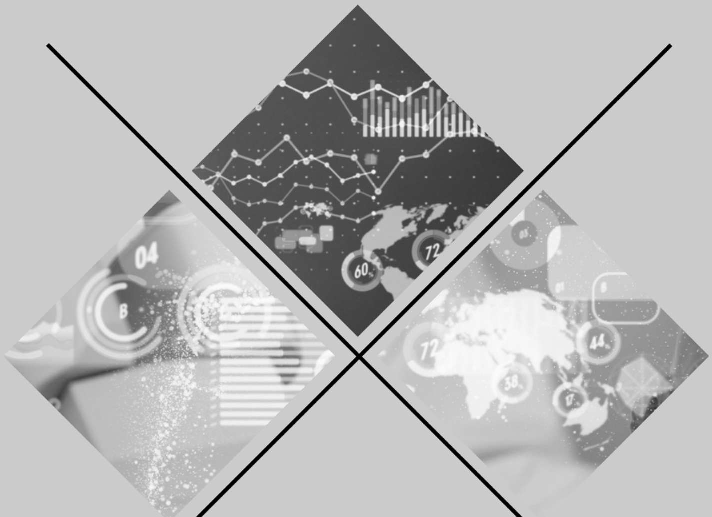
U

Uva Híbrida 84, 88, 89

V

Vitis vinífera 92

Investigação Científica no Campo da Engenharia e da Tecnologia de Alimentos 3



www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena Editora

Ano 2021

Investigação Científica no Campo da Engenharia e da Tecnologia de Alimentos 3



www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena Editora
Ano 2021